

UNIVERSITE DE CLERMONT-FERRAND
FACULTE MIXTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE

ANNÉE : 1966-1967

NUMÉRO :

53

**DE QUELQUES VARIATIONS
D'ACTIVITÉS ENZYMATIQUES
DU FOIE
AU COURS D'INTOXICATIONS
EXPÉRIMENTALES CHEZ LA SOURIS**

THÈSE

PRÉSENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE
devant la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Clermont-Ferrand
pour obtenir le grade de
DOCTEUR DE L'UNIVERSITE
(Mention Pharmacie)

PAR

Madame MAZEAUD née RIGAL Marie-Thérèse

Pharmacien

Ancienne Assistante à la Faculté

Diplômée d'Hydrologie

*Examineurs
de la Thèse*

MM. G. DASTUGUE, Professeur, Président.
P. TRONCHE, Professeur, Juge.
P. BASTIDE, Professeur, Juge.

IMPRIMERIE WALLON

VICHY
1967

UNIVERSITE DE CLERMONT-FERRAND
FACULTE MIXTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE

ANNÉE : 1966-1967

NUMÉRO :

**DE QUELQUES VARIATIONS
D'ACTIVITÉS ENZYMATIQUES
DU FOIE
AU COURS D'INTOXICATIONS
EXPÉRIMENTALES CHEZ LA SOURIS**

THÈSE

PRÉSENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE
devant la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Clermont-Ferrand
pour obtenir le grade de
DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ
(Mention Pharmacie)

PAR

Madame MAZEAUD née RIGAL Marie-Thérèse

Pharmacien

Ancienne Assistante à la Faculté

Diplômée d'Hydrologie

*Examineurs
de la Thèse*

MM. G. DASTUGUE, Professeur, Président.
P. TRONCHE, Professeur, Juge.
P. BASTIDE, Professeur, Juge.

IMPRIMERIE WALLON
VICHY
1967

Doyen :
G. MEYNIEL
Assesseur :
M. COULET

Directeur honoraire :
M. MERLE
Professeurs Honoraires :
M^{me} BLANQUET
MM. BUREAU
FOURNIER
GAUTHIER
POMMÉ

I — *Professeurs titulaires :*

- | | |
|--|--|
| MM. BARRIER, Clinique Chirurgicale. | MM. MEYNIEL, Biophysique Médicale. |
| BASTIDE, Chimie biologique et Pharmacodynamie. | MOLINA, Clinique Pneumo-phi-tiologique. |
| BAUDON, Clinique Obstétricale. | PETIT, Médecine Légale et Méde-cine Sociale. |
| BERGERON, Pathologie Médicale. | POROT, Clinique Neurologique et Psychiatrique. |
| COULET, Botanique et Microbio-logie. | POURRAT, Matière Médicale. |
| CUVELIER, Hydrologie et Clima-tologie. | ROUHER, Clinique Ophtalmolo-gique. |
| DASTUGUE, Biochimie Médicale. | TERRASSE, Clinique Médicale B. |
| DAUPHIN, Chimie Pharmaceutique et Toxicologie. | THIEBLOT, Physiologie. |
| DELAGE, Anatomie Pathologique. | THOMAS, Oto-Rhino-Laryngologie. |
| FEBVRE, Pharmacie Galénique. | TRONCHE, Pharmacie Chimique. |
| GRAS, Thérapeutique. | TURCHINI, Histologie et Embryo-logie. |
| JACQUEMET, Technique Chirurgi-cale. | VAURS, Bactériologie et Hygiène. |
| JALLUT, Séméiologie Médicale. | WILLEMIN-CLOG, Clinique Médi-cale Infantile. |
| LATAIX, Pathologie Chirurgicale. | |

II — *Professeur titulaire à titre personnel :*

M. VIALLET, Electro-Radiologie.

III — *Professeurs sans Chaire :*

- | | |
|------------------------------------|------------------------------------|
| MM. ALFIERI, Biophysique Médicale. | MM. DUCHÈNE-MARULLAZ, Physiologie. |
| BERGER, Chimie Analytique. | GERMAIN, Clinique Chirurgicale B. |
| CLUZEL, Bactériologie. | |

IV — *Maitres de Conférences Agrégés :*

- | | |
|--|--|
| M. BOSSY, Anatomie. | M ^{me} MOINADE, Médecine Générale et Thérapeutique. |
| M ^{lle} CHATONNIER, Chimie Minérale et Minéralogie. | M. PIGNIDE, Médecine Générale. |
| M ^{me} GAILLARD, Physique Pharmaceu-tique. | M ^{me} POURRAT, Botanique. |
| | M. VENRIES DE LAGUILLAUMIE, Anato-mie Pathologique. |

V — *Agrégés*

- | | |
|--|---|
| MM. CHAMPEIX, Médecine Légale et Mé-decine du Travail. | M. MERCIER, Chirurgie Générale. |
| FOURRIER, Orthopédie. | M ^{lle} RAMPON, Médecine Générale. |
| HOUDARD, Chirurgie Générale. | MM. RENARD, Pneumo-Phtisiologie. |
| JANNY, Neuro-Chirurgie. | TOURNILHAC, Neurologie et Psy-chiatrie. |

Attaché principal : M. BERTHON.

Conservateur de la Bibliothèque : M. ARCHIMBAUD.

La Faculté décide que les opinions émises dans les travaux et mémoires présentés à l'occasion d'une soutenance de thèse de Doctorat en Médecine ou en Pharmacie doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner, ni approbation ni improbation (délibération en date du 6 juin 1956).



A MON PERE

Mon premier guide dans la profession pharmaceutique.

A MA MERE

En témoignage de ma profonde affection et de ma vive reconnaissance.

A MON MARI

A MA GRAND-MERE

A MON FRERE ET A MA BELLE-SŒUR

A MES BEAUX-PARENTS

A MON BEAU-FRERE

A MA FAMILLE

A TOUS MES AMIS

A NOTRE MAITRE ET PRESIDENT DE THESE

Monsieur le Professeur DASTUGUE,

Professeur de Biochimie Médicale,
Pharmacien-Chef des Hôpitaux de CLERMONT-FERRAND,
Docteur en Médecine et en Pharmacie,
Docteur ès Sciences,
Lauréat de l'Académie de Médecine et de l'Académie des Sciences,
Chevalier de la Légion d'Honneur,
Commandeur de la Santé Publique,
Officier des Palmes Académiques.

Il nous a inspiré le sujet de cette thèse et en a guidé sans cesse l'exécution de ses conseils éclairés.

Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de notre respectueuse gratitude et de notre profonde reconnaissance.

A NOTRE JURY DE THESE

Monsieur le Professeur TRONCHE,

Professeur de Pharmacie Chimique,
Chevalier des Palmes Académiques.

*Qui nous a fait l'honneur de juger cette thèse,
en témoignage de gratitude et de profond respect.*

Monsieur le Professeur BASTIDE,

Professeur de Chimie Biologique et de Pharmacodynamie,
Pharmacien des Hôpitaux.

*En témoignage de notre respectueuse gratitude pour
tous les conseils qu'il nous a prodigués et la part
qu'il a prise dans l'élaboration de ce travail.*



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548619_0070

INTRODUCTION

Depuis quelques années, l'essor de la physiopathologie et de l'enzymologie est considérable : le contenu de la cellule hépatique est remarquablement exploré à l'aide de la microscopie électronique, de la centrifugation différentielle. La localisation d'un bon nombre d'enzymes dans les divers organites de la cellule est actuellement connue et les études de l'ultrastructure hépatique ont précisé nos connaissances sur le rôle du chondriome dans la respiration cellulaire, celui des ribosomes dans la synthèse des protéines, celui du réticulum endoplasmique dans le métabolisme du glycogène et les processus de détoxication, celui de l'appareil de GOLGI dans le stockage de substances synthétisées, celui des lysosomes dans la digestion cellulaire. La production de nécroses expérimentales toxiques permet d'autre part de dissocier, d'interpréter les phénomènes histologiques et biologiques, comme l'énonçait déjà Cl. BERNARD en 1878 :

« Les poisons peuvent être employés comme agents de destruction de la vie ou comme moyen de guérison des maladies; mais outre ces deux usages bien connus de tout le monde, il en est un troisième qui intéresse particulièrement le physiologiste. Pour lui, le poison devient un instrument qui dissocie et analyse les phénomènes les plus délicats de la machine vivante et en étudiant attentivement le mécanisme de la mort dans les divers empoisonnements, il s'instruit par voie indirecte sur le mécanisme physiologique de la vie. »

A notre tour, nous avons essayé de préciser quelques données biochimiques et spécialement enzymatiques au cours d'hépatites expérimentales.

De multiples substances chimiques peuvent réaliser des nécroses hépatiques : alloxane, arsenic, chloroforme, éthionine, alcool éthylique, phosphore, thioacétamide... mais le produit hépatotoxique par excellence, sur le plan expérimental tout au moins, est le tétrachlorure de carbone. Son action a déjà donné lieu à de nombreux travaux, aussi notre mémoire est-il divisé en deux parties essentielles : — Une première partie bibliographique dans laquelle après quelques généralités sur le foie, les moyens de production d'hépatites expérimentales, les caractères histologiques de l'hépatite tétrachlorée, nous exposons les variations des activités enzymatiques hépatiques et sériques classées selon la méthode d'HOFFMAN-OSTENHOF ainsi que les autres modifications biochimiques sous l'action principalement du tétrachlorure de carbone et enfin les hypothèses relatives au mécanisme d'action de ce toxique.

Cette première partie n'a pas son pendant en ce qui concerne le nitrate d'uranyle car celui-ci a surtout été envisagé jusqu'à présent par les auteurs comme une substance néphrotoxique et la littérature est pratiquement muette en ce qui concerne son action sur le foie.

— Une deuxième partie expérimentale divisée en deux dont une, la plus importante, consacrée à l'intoxication au tétrachlorure de carbone et l'autre à l'intoxication au nitrate d'uranyle.

En ce qui concerne l'intoxication au tétrachlorure de carbone, après

avoir rappelé (chapitre I) les généralités relatives aux modes d'intoxication et d'obtention des préparations enzymatiques, ainsi que l'étude histologique, nous exposons les variations dans le foie du taux de protéines (chapitre II), des acides désoxyribonucléique et ribonucléique (chapitre III) et de quelques enzymes (chapitres suivants) au bout de 0, 24, 48, 72, 96 heures après l'administration du toxique. Nous examinons ainsi successivement : les activités cholinestérasiqes (chapitre IV), les activités phosphatasiques (chapitre V), 5-nucléotidasique (chapitre VI), glutaminasique (chapitre VII), transaminasiques (chapitre VIII), ornithine-carbamyl-transférasique (chapitre IX), lacticodéshydrogénasique (chapitre X). La partie concernant l'intoxication au nitrate d'uranyle est plus succincte : elle correspond à la mise en évidence dans le foie des variations du taux de protéines, des cholinestérases, des phosphatases acide et alcaline, des transaminases, de la lacticodéshydrogénase.

Ensuite nous avons essayé de dresser une esquisse d'interprétation générale et nous terminons par un chapitre consacré au résumé et aux conclusions d'ensemble.

Nous ne saurions terminer cette introduction sans exprimer notre vive gratitude à notre Maître, Monsieur le Professeur DASTUGUE, qui pendant plusieurs années nous a admis comme assistant dans son laboratoire, a inspiré le sujet de cette thèse et en a guidé sa réalisation de ses conseils éclairés, ainsi qu'à Monsieur le Professeur BASTIDE dont l'amabilité et les profondes connaissances scientifiques ont été précieuses pour l'élaboration de ce travail.

Que Monsieur le Professeur TRONCHE soit assuré de notre profonde reconnaissance pour avoir bien voulu faire partie de notre jury de thèse.

Nos remerciements iront aussi à Monsieur le Professeur TURCHINI qui a bien voulu compléter notre travail par une étude histologique.

Nous tenons également à marquer notre reconnaissance à Monsieur ARCHIMBAUD, Bibliothécaire, qui a facilité nos recherches bibliographiques. Nous tenons aussi à exprimer notre profonde reconnaissance à tous les Maîtres de la Faculté de Médecine et de Pharmacie pour la qualité de l'enseignement qu'ils nous ont prodigué.

Nous voudrions enfin adresser notre amical souvenir à l'égard de nos camarades d'études, de nos camarades assistants ainsi que de tout le personnel du Laboratoire de Biochimie Médicale et de Chimie Biologique et de Pharmacodynamie.

PREMIÈRE PARTIE

RECHERCHES BIBLIOGRAPHIQUES

CHAPITRE PREMIER

GENERALITES

I. — LE FOIE.

Comme le rappellent BOIVIN et coll. (54), le cytoplasme de la cellule hépatique contient un ensemble de formations filamenteuses ou granuleuses dont les plus anciennement connues sont les mitochondries; celles-ci renferment les enzymes du cycle de Krebs, les enzymes d'oxydo-réduction, de la phosphorylation oxydative, de désamination et de transamination, soit au total une teneur enzymatique quatre fois supérieure au reste du tissu hépatique; elles contiennent certains coenzymes tels que le Co A, de nombreux facteurs vitaminiques : B₂, B₆, acides folinique et pantothénique et en particulier la vitamine B₁₂. Elles font la synthèse de l'acide adénosine-triphosphorique et sont le siège essentiel de la phosphorylation oxydative. Ont été aussi isolés par DE DUVE (142, 143) des organites plus petits renfermant des hydrolases (phosphatases, arylsulfatases, β glucuronidase, ribonucléase, cathepsine), ce sont les lysosomes dont l'activité enzymatique ne se manifeste qu'après imperméabilisation de leur membrane lipoprotéique. Enfin les microsomes formés d'acide ribonucléique, riches en phospholipides, jouent un rôle important dans l'incorporation des acides aminés aux protéines et contiennent un certain nombre d'enzymes telles que des estérases, cytochrome-c-réductase, uricase, glucose-6-phosphatase.

II. — MOYENS DE PRODUCTION D'HEPATITES EXPERIMENTALES.

La production d'hépatites expérimentales a fait l'objet de nombreux travaux : DRILL (137, 138, 139), DUBRISAY (140), HARTROFT (201), MAYER (295) et STONER (442) dressent un tableau des diverses substances capables de porter atteinte au foie et des différents types de lésions qu'elles engendrent : stéatose, nécrose, cirrhose. ROÜILLER (393), dans son livre « The Liver », consacre un chapitre aux hépatites expérimentales toxiques dans lequel il résume les nombreuses études faites par divers auteurs sur une centaine de produits en indiquant le type de lésion provoqué par chacun d'entre eux ainsi que son point d'impact mitochondrial ou cytoplasmique.

III. — L'HEPATITE AU TETRACHLORURE DE CARBONE.

Caractères histologiques : Depuis longtemps, le tétrachlorure de carbone est employé pour créer une lésion hépatique; en 1936, CAMERON et KARUNARATNE (82) déterminent que la dose toxique minimum pour le foie de Rat est 0,033-0,066 ml/kg de poids par voie sous-cutanée et que les cellules du foie de très jeunes rats possèdent une résistance marquée vis-à-vis de ce poison. Puis les travaux de nombreux auteurs tels que : ANDREWS et MAEGRAITH (12), ATERMAN (20, 21), DERVILLEE (125), McCLOSKEY et McGEHEE (279), EDWARDS et DALTON (147), GAL'PERIN (176), MYREN (314), ZIMMERMANN (514), VERNE et coll. (476), ESCHENBRENNER et MILLER (151), se sont succédés, décrivant les lésions histologiques et pathologiques provoquées chez le Rat ou la

Souris par l'intoxication tétrachlorée. Tous ces auteurs mettent en évidence la dégénérescence graisseuse du foie et constatent que le toxique peut être employé soit en une dose massive, unique, produisant une hépatite aiguë, une nécrose rapide, étendue et sévère, soit à petites doses répétées aboutissant à une cirrhose; les voies d'administration dans l'un et l'autre cas, les doses et la durée du traitement sont variables. Selon KIM (243), une forte dose de tétrachlorure de carbone est plus toxique pour le foie que des doses moindres administrées plus fréquemment.

Maintenant des travaux plus précis et plus approfondis ont été effectués à l'aide du microscope électronique : OBERLING et ROUILLER (325), BASSI (31), AIZAWA (7) décrivent le gonflement du réticulum endoplasmique et des mitochondries, le dépôt de graisses, l'apparition de cellules hydropiques, la disparition des granules de Palade. HOFFMAN et coll. (212) remarquent dans les foies de Rats ayant reçu une injection de ce poison, une perte de granulations cytoplasmiques basophiles et le développement d'intenses éosinophiles cytoplasmiques dans les cellules nécrotiques ainsi qu'une augmentation marquée des acides nucléiques tissulaires et non de l'azote tissulaire.

Facteurs modifiant l'action du toxique : Plusieurs facteurs modifient le degré de toxicité et de sensibilité des toxiques :

— La voie d'administration du toxique a une grande influence sur la sévérité des lésions : en ce qui concerne le tétrachlorure de carbone, différentes voies ont été employées : intrapéritonéale, intraveineuse, intraportale, intragastrique. Les toxicités par voie intraveineuse et intrapéritonéale sont à peu près identiques mais BENEKE et SIMON (41) obtiennent par injection intraportale une nécrose périphérique au lieu de centro-lobulaire.

— Les réponses aux toxiques varient également avec l'espèce : le Chien, le Rat, le Cobaye, la Souris et le Lapin sont très sensibles au tétrachlorure de carbone tandis que le Singe [LAKE (261)] et le Poulet [HALL et SHILLINGER (199)] y sont résistants. L'absorption intestinale du Lapin, du tétrachlorure de carbone est meilleure que celle du Chien, et le Lapin est ainsi plus sensible à l'administration *per os* de ce toxique tandis que ces deux animaux réagissent similairement à l'inhalation de CCl_4 [LAMSON (262), GARDNER (177)].

— La susceptibilité aux agents hépatotoxiques varie également avec l'âge : les jeunes Rats sont plus résistants au tétrachlorure de carbone que les Rats adultes [MEYER et PESSOA (298), LAMSON (262), GARDNER (177), CAMERON et KARUNARATNE (82), CALVERT et BRODY (76)]. Leur pouvoir de régénération est également plus grand chez les jeunes que chez les adultes [POST (344, 345)]. Selon DAWKINS (121), l'administration de tétrachlorure de carbone à des Rats nouveau-nés ne produit pas une apparence histologique de nécrose et cela provient du fait que la concentration maximum du toxique arrive beaucoup plus tôt et baisse plus rapidement que chez l'adulte.

— Sous des régimes identiques les Rats mâles sont plus sensibles que les femelles aux toxiques tels que le tétrachlorure de carbone [GYORGY et coll. (198)]. Par contre selon OPPENHEIMER (331), le tétrachlorure de carbone ne produit pas de lésion hépatique chez le Coq alors que dans les mêmes conditions il cause une dégénérescence graisseuse chez la Poule. BENGMARK et OLSSON (43) remarquent aussi que les Rats femelles sont plus sensibles à CCl_4 dans les phases de dégénération et de régénération et qu'un prétraitement des Rats femelles au propionate de testostérone réduit cette sensibilité.

— Le manque de nourriture et un régime fort en graisses aggravent les effets hépatotoxiques alors que des régimes riches en hydrates de carbones ou en protéines exercent une action protectrice [DRILL (137)].

— Plusieurs facteurs hormonaux se sont aussi révélés comme influant sur la toxicité du tétrachlorure de carbone : l'hyperthyroïdisme augmente la sensibilité au CCl_4 . Selon CALVERT et BRODY (79), un excès de thyroxine, en conduisant à des taux sanguins élevés de catécholamines libres, aggraverait l'effet local sympathicomimétique de ce poison et potentialiserait leur action par la réduction de l'activité mono-oxydasique des mitochondries hépatiques [ZILE et LARDY (513)], aussi

bien que l'activité O.méthyltransférase [D'IORO et LEDUC (223)]. L'administration de cortisone aggrave également les lésions induites par le tétrachlorure de carbone [ATERMAN et AHMAD (21)]. VIDO et TOMICK (483) ont suivi l'évolution de certaines altérations biochimiques et morphologiques consécutives à deux injections successives de tétrachlorométhane chez le Chien espacées de six semaines. Les altérations sont identiques; la première dose de l'agent hépatotoxique n'engendre donc aucune modification de la réactivité de l'organisme.

Nous citerons aussi les travaux dans un tout autre domaine de DODEL et DASTUGUE (135) qui, en 1936, se sont intéressés aux propriétés pharmacodynamiques du tétrachlorure de carbone administré par inhalation, sur la pression artérielle du Chien et *in vitro* sur les contractions d'organes isolés.

A côté de ces hépatites expérimentales, remarquons encore que le tétrachlorure de carbone est un solvant toujours employé de nos jours dans l'industrie, que c'est aussi un anthelmintique utilisé en médecine vétérinaire et que de ce fait plusieurs cas d'intoxication humaine, accidentelle et même quelquefois mortelle, incriminés à la manipulation de ce toxique sont rapportés dans la bibliographie [FRIEDMAN et EALES (169), DVORACKOVA (146), CLIFF (97), JACOBZINER et RAYBIN (226)]. VEREERSTRAETEN et coll. (475) et LARRARD (264) signalent cliniquement une hépatite toxique et une insuffisance rénale aiguë chez plusieurs sujets ayant inhalé des détachants à base de tétrachlorure de carbone ou ayant ingéré ce toxique. SIMLER et coll. (426) ont même suivi l'évolution d'un cancer du foie sur cirrhose par intoxication lente au tétrachlorure de carbone chez un individu ayant manipulé un extincteur au CCl_4 .

CHAPITRE II

VARIATIONS BIOCHIMIQUES OBSERVEES ESSENTIELLEMENT AU COURS D'HEPATITES EXPERIMENTALES AU TETRACHLORURE DE CARBONE

Ce chapitre bibliographique est divisé en deux parties dont la première et la plus importante relate les travaux concernant les variations des activités enzymatiques et la deuxième les travaux portant sur d'autres modifications biochimiques (vitamines, cations, lipides, protides).

I. — VARIATIONS DES ACTIVITES ENZYMATIQUES.

C'est la classification des enzymes d'après HOFFMANN-OSTENHOF (213) qui a servi de base à notre revue bibliographique et que nous résumons très succinctement ci-dessous :

A) *Hydrolases* :

Estérases (Estérases carboxyliques, phosphoestérases, sulfatases).
Glucosidases. Amidases. Peptidases. Polyphosphatases.

B) *Transférases* :

Transaminases. Transacylases. Transphosphatases.

C) *Oxydo-réductases* :

Transhydrogénases oxytropes et anoxytropes. Transélectronases.
Peroxydases et catalases.

D) *Lyases et Synthésases* :

Décarboxylases. Aldolases. Hydratases et Déshydratases.

E) *Isomérases et Racémases*.

N.B. — *L'étude bibliographique a été arrêtée courant année 1966.*

A. — HYDROLASES.

ESTÉRASES : L'activité estérasique du foie de Souris, contenue essentiellement dans les membranes microsomiques, a fait l'objet d'un bon nombre de travaux en hépatopathologie expérimentale. CECCALDI et coll. (89) notent que l'activité estérasique du foie disparaît progressivement à mesure que la nécrose due aux vapeurs de chloroforme envahit les lobules. HEBERT et coll. (203), CORNISH (106) remarquent que chez des Rats exposés à des vapeurs de tétrachlorure de carbone, le taux d'estérase décroît dans le foie à des valeurs extrêmement basses alors que dans le sérum il atteint un maximum au bout de 24 heures. KOCH-WESER (247) rapporte cette chute très marquée dans le foie sous l'influence de ce même toxique. KUMATE et coll. (255) étudient les activités estérasiques vis-à-vis de l'acétate d'éthyle et du butyrate d'éthyle dans le foie, le plasma et l'urine de Rats, Lapins et Chiens intoxiqués au CCl_4 : ces deux estérases et principalement la butyryléstérase voient

leur taux atteindre dans le plasma un maximum 24 heures après l'administration du toxique et revenir à la normale vers le 3^e-4^e jour; l'activité enzymatique diminue parallèlement de moitié dans le foie sans apparaître dans l'urine; les plus grandes variations sont observées par ordre décroissant chez le Lapin, le Rat, le Chien. CORNISH (107), approfondissant cette étude, détermine l'activité estérasique du foie et du sérum de Rats exposés à des vapeurs de CCl_4 , par électrophorèse sur papier en employant de l' α -naphthylacétate comme substrat : les bandes électrophorétiques de sérum de Rats normaux contiennent une seule zone d'activité estérasique et celles de Rats exposés à CCl_4 deux zones supplémentaires; quand le sérum de Rat normal est mélangé à du foie de Rat normal, la bande électrophorétique obtenue est semblable à celle du sérum de Rat exposé à CCl_4 ; il y aurait passage de l'activité estérasique du foie dans le courant sanguin; 48 heures après, la zone estérasique normale du sérum diminue; ces résultats coïncident avec ceux publiés par CORNISH et BLOCK (108, 109), à savoir une chute d'activité estérasique sérique de 50 p. 100.

Lipase : L'administration répétée de CCl_4 à des Souris ne cause seulement qu'un léger changement à l'activité lipasique du foie alors qu'une seule dose produisant une nécrose aiguë la réduit fortement vers le troisième jour et la fait augmenter vers le cinquième [LEE et coll. (269)]. La baisse de cette activité enzymatique est découverte aussi par PELOCCHINO (336) et BERGAMINI (45) dans le foie de Lapins traités par ce même toxique. QUINAN (350) suggère que le chloroforme, induisant une nécrose centrale du foie chez les Cobayes, entraîne un trouble dans la répartition de la lipase tissulaire : diminution dans le foie de 30 p. 100 et augmentation dans le rein et les muscles.

Cholinestérases : On distingue deux variétés d'enzymes capables d'assurer l'hydrolyse de l'acétylcholine : la cholinestérase vraie ou spécifique surtout abondante dans le tissu nerveux et les érythrocytes ; la pseudo-cholinestérase, non spécifique, douée de larges possibilités hydrolytiques et présentes dans le sérum.

BRAUER et ROOT (58), chez des Chiens intoxiqués au CCl_4 , trouvent une montée du taux de la cholinestérase plasmatique, suivie par une chute lente et irrégulière. Ces mêmes auteurs (59), chez des Rats intoxiqués par ce même poison, attribuent bien la chute de l'activité cholinestérasique du plasma à la lésion hépatique produite par CCl_4 , chute qui suggérerait l'origine hépatique de l'enzyme plasmatique; il y aurait de plus une réserve mobile de cholinestérase dans le foie, ce qui pourrait expliquer le décalage dans la chute de la cholinestérase plasmatique et la baisse très prononcée de la cholinestérase hépatique. AUGUSTINSSON (22) s'intéresse à la cholinestérase plasmatique des Porcs atteints de lésions hépatiques toxiques, tandis que BROWN et HARRISON (64) remarquent que les activités cholinestérasiques du foie et du sérum de Rat femelle sont initialement beaucoup plus grandes que celles des mâles; de plus, chez les femelles, 24 heures après l'injection de CCl_4 , le taux de la cholinestérase hépatique tombe à un quart de sa valeur initiale et revient à sa valeur primitive vers le onzième jour; l'activité sérique diminue plus lentement et diminue encore quelques jours après que l'activité du foie ait commencé de monter. Chez les Rats mâles, CCl_4 cause une chute beaucoup moins accentuée de l'activité cholinestérasique du foie et aucune variation notable du taux sérique. L'association entre la répartition histologique du foie et le retour de l'activité cholinestérasique d'abord dans le foie et ensuite dans le sérum, à des valeurs normales, confirment l'hypothèse que le foie est la source de la plus grande partie ou de toute l'enzyme du sérum chez le Rat. LINET et coll. (275) constatent que pour produire les mêmes variations de l'activité cholinestérasique sérique, il faut des doses différentes de CCl_4 selon que l'on s'adresse aux Souris mâles ou femelles. FISCHER et coll. (155), chez des Rats, PELOCCHINO (336), chez des Lapins, remarquent après injection intrapéritonéale de CCl_4 une baisse du taux de la cholinestérase sérique. YAMAMURA et coll. (509) étudient l'effet de diverses substances toxiques employées en industrie sur la cholinestérase spécifique du cerveau et du foie de Rats et publient que le sulfure

de carbone décroît remarquablement cette activité au niveau du foie tandis que le chlorure mercurique, le tétrachlorure de carbone, le nitrobenzène et l'aniline ne montrent qu'un effet faible ou nul sur cette enzyme; l'activité dans le cerveau serait légèrement augmentée par CCl₄ et CS₂. Enfin nous citerons simplement les travaux de MARTIN (287), de SLESINGER (428), de HAUSS et LEPPELMANN (202) portant sur les variations de cette activité enzymatique dans le sérum au cours de différentes maladies hépatiques ou autres chez l'Homme.

HEIM et LEUSCHNER (205) déterminent une chute de l'activité *procaïnéstérasiq*ue dans le foie alors que MARDASHEV et BUROBIN (285, 286) détectent, après intoxication tétrachlorée, dans le sérum sanguin, l'*Purocaninase*, enzyme qui n'existe pas à l'état normal, ce qui permet dans une certaine mesure de juger du degré de lésion hépatique.

Phosphoestérases :

a) *Phosphomonoestérases : Phosphatases acide et alcaline.* La phosphatase acide est localisée dans les lysosomes [TRUMP et ERICSSON (461)] et l'alcaline est essentiellement distribuée dans la paroi des canalicules biliaires [WACHSTEIN (490)].

Selon GREENSTEIN (193), dans le foie, la phosphatase acide est en quantité plus élevée que l'alcaline alors que dans le rein et le sérum la répartition est inversée; l'activité phosphatasique acide est pratiquement la même dans le foie normal de Souris que dans les tumeurs hépatiques transplantées mais le taux de la phosphatase alcaline est bien moindre dans les tumeurs; chez le Rat, l'acide et l'alcaline sont beaucoup plus élevées dans la tumeur transplantée.

Chez des Rats intoxiqués au tétrachlorure de carbone, il se produit une très légère baisse dans le foie de la phosphatase alcaline et une baisse plus marquée de la phosphatase acide, maximum vers les 3^e et 4^e jours et revenant à la normale vers le 6^e jour [DECSI et coll. (123)]. Par contre d'après les travaux de TSUBOI (462), chez la Souris, de WAHI (492), chez le Rat, la phosphatase alcaline du foie augmente après intoxication aiguë au CCl₄ tandis que l'acide diminue légèrement ou ne varie point. Cette activité phosphatasique est augmentée principalement dans les zones centrales dégénérées [MORRISON et coll. (311)]. Selon ZIMMERMANN (515), le tétrachlorure de carbone inhalé par des Rats engendre une augmentation de la phosphatase alcaline hépatique s'installant d'abord dans les zones périphériques des acinis et aucune variation quantitative de la phosphatase acide. Chez la Souris, l'intoxication aiguë tétrachlorée produit une augmentation graduelle de l'activité phosphatasique alcaline hépatique surtout dans les parties centrales du lobule alors que l'administration prolongée de ce toxique ne révèle qu'un léger changement [LEE et coll. (269)]. Contrairement à ce résultat, STOWELL et coll. (444), BERGAMINI et coll. (45) découvrent après avoir provoqué une cirrhose expérimentale au CCl₄ chez la Souris une augmentation de la phosphatase alcaline hépatique. DRILL (137) utilise pour détecter la lésion hépatique produite par CCl₄ le dosage de l'activité phosphatasique sérique. Ce toxique provoque une augmentation du taux sérique de la phosphatase acide [SOVA (431)], de l'alcaline [BRUNS et NEWHAUS (66), VIDO et TOMICK (482)]. Cette élévation de la phosphatase alcaline est observée dans le sérum mais aussi dans le parenchyme hépatique du Rat intoxiqué au CCl₄, selon la publication de POPPER et coll. (341).

PELOCCHINO (336), après avoir traité des Lapins au tétrachlorure de carbone pendant une dizaine de jours, constate une diminution de la phosphatase acide du foie et de la phosphatase alcaline du sérum et une augmentation de la phosphatase alcaline du foie. HORIMOTO (216) observe que CCl₄ augmente légèrement l'activité phosphatasique alcaline du sang de Lapins et diminue l'activité cholinestérasiq.ue. KONISHI (250), poussant ces travaux plus loin, remarque que le tétrachlorure de carbone augmente la phosphatase acide et alcaline dans le sérum, l'acide dans la moelle osseuse et diminue l'alcaline dans le foie, la rate, le jéjunum et la moelle osseuse. Selon DANISHEUSKI (113), le tétrachlorure de carbone aussi bien que le dichloroéthane diminue la phosphatase

tasémie. Le taux de la phosphatase alcaline du plasma augmente après hépatectomie partielle chez le rat [TALEISNIK (449)], tandis qu'il y a une augmentation de la phosphatase alcaline dans les foies normaux et rendus cirrhotiques par l'administration de CCl_4 mais après hépatectomie partielle [BARTOK et coll. (27)]. Nous signalerons également les travaux de LAUDAHN (266), HARTL (200) sur cette activité phosphatase au cours de l'intoxication au CCl_4 et ceux de DIANZANI (126) qui relatent au cours de dégénérescences graisseuses du foie une augmentation de l'A.T.P.ase et des phosphatases acide et alcaline et une irrégularité de distribution de la pyrophosphatase et des phosphatases acide et alcaline dans la cellule hépatique.

— *5-Nucléotidase ou Adénosine monophosphatase spécifique (A.M.P.ase)* : Cette enzyme a été particulièrement étudiée par DIXON et PURDOM (133) et YOUNG (510) : au cours d'intoxication au tétrachlorure de carbone, cette activité enzymatique ne s'élève pas dans le sérum de Lapins; par contre elle est nettement élevée dans les icères obstructifs, et plus légèrement dans les atteintes cellulaires. Chez les Rats une augmentation rapide et marquée se produit dans le sang, après intoxication aiguë tétrachlorée.

— *Glucose-6-phosphatase* : Cette enzyme est normalement présente dans le foie et le rein et intégralement liée aux microsomes. BEAUFAY et coll. (40) retrouvent cette localisation dans le foie de Rat et observent une diminution considérable de la glucose-6-phosphatase hépatique sous l'influence de l'intoxication tétrachlorée. RECKNAGEL et LOMBARDI (355) constatent que cette enzyme diminue dans le foie de 33 p. 100 après administration intragastrique de CCl_4 à des Rats, et que d'autre part elle est complètement détruite *in vitro* par des solutions de CCl_4 à 30° C et non à 0° C. BOERNIG et coll. (53) remarquent que, dans les microsomes de foie normal, elle n'est pas librement accessible à son substrat alors que dans les microsomes lésés par CCl_4 la structure ergatoplasmique est altérée à un tel degré que l'affinité entre l'enzyme et le substrat est plus grande; une partie de l'enzyme est cependant inactivée due à la destruction et à l'inhibition non compétitive. Selon WOLFSON et coll. (501) cette activité enzymatique augmente dans le sérum non seulement au cours de l'intoxication aiguë du Rat par CCl_4 mais aussi au cours de ligatures du canal cholédoque; chez l'Homme quelques élévations notables sont observées également dans le sérum au cours d'hépatites virales. D'après MOYSON et GAVOSTO (313), le choc produit en écrasant les pattes postérieures du Rat engendre une diminution de la glucose-6-phosphatase au niveau des mitochondries du foie, une augmentation dans les microsomes et l'apparition de cette activité dans le surnageant. Ces auteurs concluent que l'hyperactivité de cette enzyme dans le foie semble conditionner l'hyperglycémie des animaux choqués.

WARAVDEKAR et GRIFFIN (494) constatent que l'activité diphospho-pyridine-nucléotidasique du foie de Souriceau est environ inférieure de 50 p. 100 à celle de l'adulte et qu'elle augmente après l'implantation d'une tumeur atteignant un taux supérieur de 50 p. 100 au taux normal.

b) *Phosphodiesterases. Nucléases* : ARTIZZU et DIANZANI (14), UGAZIO et coll. (470) étudient les variations de l'activité ribonucléasique dans les mitochondries et les lysosomes du foie de Rats intoxiqués expérimentalement : cette activité augmente dans les mitochondries 6 heures après l'administration de CCl_4 pur et d'une façon encore plus marquée dans le liquide surnageant pour atteindre des maxima au bout de 24 heures. Chez des Rats traités avec une solution de tétrachlorure de carbone dans l'huile d'olive, elle n'augmente dans les mitochondries que 24 heures après et dans le surnageant au bout de 6 à 24 heures. KURNICK et CARRERA (256) déterminent l'activité désoxyribonucléasique de la veine porte, de la veine hépatique et de la bile et constatent que l'anoxie ou l'injection de CCl_4 suppriment 24 heures après la capacité du foie « d'extraire la D.N.ase du sang ».

Sulfatases : DOGSON (136) a mis en évidence dans le foie de mammifères l'existence de trois arylsulfatases : les sulfatases A et B qui

hydrolysent rapidement le sulfate de nitrocatéchol et qui se trouvent dans les mitochondries et la sulfatase C qui agit sur le sulfate de paranitrophénol et qui est fortement liée aux microsomes du foie. ROY (394, 395, 396) remarque de plus dans le foie de Bœuf et de Rat la présence d'une stéroïde-sulfatase capable d'hydrolyser les esters sulfuriques d'hormone stéroïde; ce même auteur étudie comparativement les sulfatasas hépatiques de différentes espèces : Rat, Souris, Cobaye, Lapin, Grenouille et note que l'administration de tétrachlorure de carbone à des Rats cause au bout de 3 heures une baisse de l'activité de la stéroïde-sulfatase, mais pas de changement dans les autres. ABBOTT et EAST (3) détectent une chute de l'activité arylsulfatasique du foie et une augmentation dans le sérum, et UGAZIO (469) une augmentation significative de la sulfatase B et pas de variation de la sulfatase A dans le foie de Rats traités au CCl₄.

GLUCOSIDASES. β -GLUCURONIDASE : Cette enzyme est répartie chez l'Homme surtout dans le foie et les reins [LEVY et MARSH (273)]. Chez le rat, elle est localisée dans le foie seulement dans les lysosomes et elle passe des cellules hépatiques dans le sang dès que les lysosomes sont lésés, par exemple 3 à 5 heures après l'administration orale de tétrachlorure de carbone [REES et SINHA (360)]. Selon les travaux de MILLS et SMITH (301), l'activité β -glucuronidasique est basse à la naissance et atteint un maximum vers le 25^e-30^e jour, puis tombe lentement au taux adulte vers le 80^e-90^e jour après la naissance du Rat; ces auteurs remarquent aussi qu'elle s'élève dans le foie de Rats ayant reçu du tétrachlorure de carbone en solution dans de l'huile d'arachide plus faiblement que chez des Rats ayant reçu une injection d'huile d'arachide seule et ils concluent à la fuite de cette activité enzymatique hors du foie sous l'influence du toxique. SLATER (427), étudiant la toxicité relative du tétrachlorométhane et du trichlorofluorométhane sur le Rat décèle une rapide augmentation du taux sérique de la β -glucuronidase par CCl₄ et aucune modification par CCl₃ F.

Amylase : HEBOYAN et MESSERI (204) constatent chez des Rats traités au CCl₄ une baisse de l'activité amylasique du foie et du pancréas de 41 p. 100 par rapport à la valeur normale et une augmentation dans le plasma sanguin de 36 p. 100. CICCHINI (95) rapporte les mêmes résultats et démontre l'effet protecteur de l'administration de propionate de testostérone. Quant à GREENSTEIN (193), il remarque que des transplants de tumeurs hépatiques ne modifient pas chez le Rat cette activité enzymatique.

AMINASES, DÉSAMINASES, AMIDASES. Arginase : La plus grande source en est le foie de Mammifères. Les Rats normaux ont peu ou pas d'arginase dans le plasma sanguin; après administration de tétrachlorure de carbone par voie orale, il y a libération de cette activité enzymatique dans le courant sanguin, maximum vers la 36^e heure, moment où la nécrose du foie semble la plus sévère. Par contre, le taux d'arginase diminue environ de moitié dans le foie au bout de 48 heures et revient à la normale au fur et à mesure de la régénération; d'autre part l'urée sanguine augmente chez les Rats intoxiqués [BASILIO et coll. (30)]. Selon les travaux de KUMATE (254), l'activité arginasique du sérum de Rats est de 0,31 unité p. 100 ml, de 118,7 unités 24 heures après l'administration intrapéritonéale de CCl₄ et de 1,7 unité à la 96^e heure; parallèlement, l'activité hépatique passe de 762 unités (par g de tissu sec) à 127 à la 48^e heure et à 648 unités à la 96^e heure. Chez les Lapins, cette activité enzymatique est très faible dans le sérum et elle augmente 12 heures après l'administration de CCl₄ atteignant plus de 100 fois sa valeur normale; alors qu'elle est inexistante dans l'urine de ces animaux bien portants, elle est excrétée d'une manière très marquée vers la 24^e heure après l'intoxication. Alors que NUMATA (324) note aussi cette apparition de l'activité arginasique dans le sérum de Lapins 24 heures après l'injection du tétrachlorure de carbone, KLINGER et KERSTEN (245), FLÖRES et coll. (162) remarquent chez le Rat, dès la deuxième heure après l'administration de ce même toxique, une diminution légère de l'activité arginasique hépatique qui s'accroît pendant 48 heures. D'après KASYMOV (235), l'activité arginasique du foie de Rats intoxi-

qués au tétrachlorure de carbone est 1,6 fois moindre que celle des témoins par rapport au tissu frais et 1,27 fois moindre par rapport aux protéines; la formation d'urée par le foie décroît de 40 p. 100 et son taux sanguin s'abaisse. Selon OGAWA (328), ce même toxique provoque chez les Lapins une arginasémie qui est inhibée par l'administration de composés à radical-SH. ROSSI et Mac LEAN (389) constatent que chez le Rat, l'arginase hépatique décroît seulement 24 heures après l'administration de CCl_4 du fait qu'elle est localisée dans la fraction soluble de la cellule et non dans les mitochondries. TROPEANO et BELFIORE (457) ont retrouvé aussi cette arginasémie dans le sérum de Cobayes.

PELOCCHINO (336) détecte au contraire, après avoir provoqué une hépatite tétrachlorée chez le Lapin, une hyperactivité arginasique hépatique significative et il l'interprète comme un mécanisme tendant à compenser la perte d'une partie de la capacité du foie à faire la synthèse de l'urée.

Selon les travaux de UGARTE et PINO (467, 468), le sérum de Chien normal ne témoigne d'aucune activité arginasique, mais celle-ci se révèle quelques heures après l'injection de tétrachlorure de carbone, puis disparaît rapidement entre la 120^e et la 180^e heure. Selon ces mêmes auteurs, il n'y a pas d'arginase dans le sérum de sujet normal alors que dans le cas de cirrhose, d'hépatite, on dénote une arginasémie. Ce test enzymatique aurait de plus une valeur spécifique de l'atteinte hépatique, du fait que le foie est la source principale de cette enzyme.

Glutaminases : Ces enzymes libèrent de l'ammoniac à partir de la glutamine; l'une est phospho-activée, c'est la glutaminase I, l'autre est pyruvo-activée, c'est la glutaminase II; elles se situent pour la plus grande partie dans les mitochondries. ABABEI et BADESCU (1) remarquent que les activités glutaminasiques II du foie et glutaminasique I du cerveau diminuent après intoxication tétrachlorée chez la Souris à la 2^e heure et qu'elles présentent une tendance à revenir à la normale après la 48^e heure; les glutaminases représenteraient un substratum pour la respiration cellulaire du tissu hépatique et cérébral.

Phosphoamidase : Cette enzyme disparaît de la veine centrale à la périphérie des foies de Rats intoxiqués au tétrachlorure de carbone [EGER (148)].

PROTIDASES, PEPTIDASES. *Leucine-aminopeptidase* : L'intoxication au tétrachlorure de carbone entraîne chez le Chien une élévation considérable du taux sérique de la leucine-aminopeptidase, maximum à la 48^e heure et un retour à la normale vers le 5^e jour [FLEISHER et BUTT (157)]. Selon HARTL et coll. (200), il en est de même chez le Rat. FLEISHER et coll. () publient les variations de plusieurs peptidases chez des sujets atteints de maladies hépatiques.

Alors que MARTINI et DIANZANI (288) notent une augmentation d'activité de la *Cathepsine* des foies de Rats traités au CCl_4 , enzyme localisée dans les lysosomes, SCALABRINO et coll. (408) étudiant l'*Ocytocolinase* hépatique décèlent une diminution de moitié de cette activité enzymatique dans les foies rendus cirrhotiques par l'administration de CCl_4 .

BOLINGER et SLINKER (56) constatent la disparition de l'insuline marquée dans le sérum de Lapins traités au tétrachlorure de carbone et MENZINGER et coll. (297) une baisse de l'*Insulinase* hépatique. ROGNONE (387) ne décèle pas de variation de l'activité dipeptidasique hépatique tandis que KOKOT (249) remarque une augmentation du taux sérique de la *Gamma-glutamyltranspeptidase* et que MALINOWSKA et TOMICKI (283) trouvent une activité peptidasique accrue par l'administration de ce toxique tétrachloré à des Rats ou à des Chiens.

ALEMAN ALEMAN et GITLER (8) remarquent que 6 heures après l'injection de CCl_4 il y a une accumulation de tryptophane dans le foie de Rat et une baisse significative du taux de la *Tryptophanepyrrolase* et de la cynurénine plasmatiques, variations qui obtiennent un maximum 24 heures après. MARDASHEV et BUROBIN (285) détectent l'*His-tidase* dans le sang au cours de l'intoxication tétrachlorée. WANG CHUNG-YEN (493) suggère que l'intoxication au CCl_4 résulte principa-

lement dans la diminution d'activité du système oxydasique de l'acide p-hydroxyphénylpyruvique dans lequel le 2-6-dichlorophénolindophénol jouerait le rôle de cofacteur comme accepteur d'hydrogène.

BAZIN et DELAUNAY (38), faisant une étude très poussée de l'activité collagénasique, trouvent que le taux du glycogène hépatique augmente au cours du développement de la cirrhose au CCl_4 , que le collagène formé en excès durant l'administration du toxique tend à diminuer ensuite très rapidement et qu'un puissant facteur intervient : la *Collagénase*, abondante dans le foie des animaux cirrhotiques et en voie de régression.

LOYKE (276) s'aperçoit que l'administration chronique de CCl_4 à des Rats hypertendus expérimentalement, abaisse cette tension et suggère qu'il y a un déficit en « *Converting Enzyme* » et que CCl_4 produirait un effet inhibiteur sur cette enzyme qui transforme l'angiotensine I en angiotensine II active; par contre, l'*angiotensinase* sérique ne subit pas de variations.

POLYPHOSPHATASES : L'*Adénosine-triphosphatase* ou A.T.P.ase est localisée dans le foie de divers animaux surtout au niveau des sinusoides hépatiques [ARVY (16)]. CAIRELLA et URBINATI (74) notent une élévation de l'activité A.T.P.asique dans le foie et le sérum d'animaux intoxiqués au CCl_4 et CALVERT (75) une activation de l'adénosine-triphosphatase au niveau des mitochondries. RECKNAGEL et ANTHONY (352) constatent que des solutions de CCl_4 produisent une transformation dans les propriétés de cette enzyme des mitochondries de foie de Rat *in vitro*; CCl_4 exalte seulement l'activité adénosine-triphosphatasique activée par le magnésium et fait disparaître celle activée par la 2-4 D.N.P.

SCHATZKI (410), chez des Lapins et des Chiens intoxiqués au CCl_4 , trouve une faible activité A.T.P.asique dans les zones graisseuses et une augmentation dans les sinusoides du foie. DECSI et coll. (123) remarquent après intoxication au CCl_4 une baisse du taux hépatique de l'A.T.P.ase et de la pyrophosphatase maximum au bout du 2^e jour et remontant à la normale vers le 6^e jour. CAPILNA et coll. (84) observent aussi une diminution de l'activité pyrophosphatasique, 2 heures après l'injection de CCl_4 à des Souris, au niveau du cerveau mais surtout au niveau du foie.

B. — TRANSFERASES.

Transaminases : Les *transaminases glutamique-oxalacétique* (G.O.T.) et *glutamique-pyruvique* (G.P.T.) sont réparties dans les principaux organes de l'Homme [WROBLEWSKI et LA DUE (505)] et des animaux [AWAPARA (24)]; elles sont présentes en quantité importante dans le foie et, du point de vue qui nous intéresse, ont fait l'objet d'un bon nombre de travaux dans le domaine clinique et expérimental.

FLEISHER et WAKIM (159) observent chez des Chiens intoxiqués au tétrachlorure de carbone une élévation du taux de G.O.T. sérique maximum à la 48^e heure, et une variation dans le même sens mais plus élevée et plus prolongée de celui de G.P.T. sérique. Ces mêmes auteurs distinguent d'autre part G.O.T. dosée à pH 7,4 et G.O.T. dosée à pH 6,0 qui semble inexistante chez les témoins. Cette hypertransaminasémie, en particulier de G.P.T., est aussi dénotée par SLESINGER (428), CRISTOL et coll. (112), chez le Chien intoxiqué au CCl_4 , à la fin du 2^e jour. VIDO et TOMICK (482), VIDO et NIEDERLAND (478), après avoir injecté du CCl_4 tous les quatre jours pendant six mois à des Chiens, constatent une augmentation de G.O.T. et G.P.T. sériques pendant le premier mois, maximum au bout de 15-30 jours, puis un retour à la normale de G.O.T. vers le cinquantième jour, tandis que G.P.T. se maintient à un taux élevé pendant plus longtemps. Selon VIDO et NIEDERLAND (480), ce sont l'activité de G.P.T. et la rétention de la sulfo-bromophthaléine dans le sérum qui sont les indicateurs biochimiques les plus sensibles du foie lésé et ce, aussi bien pour une agression unique au tétrachlorométhane que pour une agression répétée.

DE NICOLA et coll. (221), HARTL et coll. (200), BRUNS et WOLLENWEBER (69) remarquent, soit chez des Rats, soit chez des Souris, une augmentation rapide de G.O.T. et de G.P.T. sériques quelques heures après l'injection de CCl₄, maximum à la 24^e heure, et une baisse concomitante dans le foie. ASADA (17) découvre une baisse de ces activités transaminasiques dans le foie de Rat et de Souris, que l'intoxication au CCl₄ soit aiguë ou chronique, et une élévation dans le sérum seulement dans le cas de l'intoxication aiguë. MOLANDER et FRIEDMAN (302) observent chez des Rats ayant reçu des doses répétées de CCl₄ une élévation de l'activité transaminasique sérique et aucun changement significatif au niveau du foie. FRANKL et MERRITT (167) constatent une augmentation de G.O.T. et G.P.T. sériques atteignant 10 fois la valeur normale mais ne trouvent pas de correspondance dans la bile. BENGMARK et OLSSON (44) décèlent une baisse de G.P.T. dans le tissu hépatique du Rat dès le deuxième jour après une injection unique de CCl₄ et un retour à la normale le dixième jour. CORNISH et BLOCK (108, 109) enregistrent des variations de G.O.T. sérique chez des Rats exposés une seule fois pendant 4 heures à des vapeurs tétrachlorées. Selon les travaux de GIUSTI et coll. (184), lors de l'intoxication au CCl₄ chez la Souris, il y a une augmentation très élevée des activités transaminasiques G.O.T. et G.P.T. dans le sérum maximum au bout de 30 heures, et le rapport entre les deux activités transaminasiques qui est de 3,14 chez les Souris normales, tombe en dessous de l'unité tandis que ces activités enzymatiques diminuent parallèlement dans le foie. ZOLTON et coll. (519) observent 36 heures après l'administration sous-cutanée de CCl₄ à des Rats, une élévation de G.O.T. sérique présentant un pic au bout de 48 heures. MOLANDER et coll. (303), après avoir administré des quantités croissantes de CCl₄ à des Rats, constatent que l'élévation de G.O.T. sérique est parallèle à l'intensité des lésions. FERRARI (154), en injectant du CCl₄ dans la veine mésentérique de Rat, retrouve un résultat identique. VALAME et coll. (472) chiffrent, chez des Rats traités au CCl₄, l'activité G.O.T. sérique à trois fois sa valeur normale. D'après SARTORI et NESPOLI (406) il y a une diminution du contenu transaminasique dans plusieurs organes étudiés (cerveau, reins, foie, muscle squelettique) et une augmentation sérique; le foie n'interviendrait donc pas exclusivement, au cours de cette intoxication tétrachlorée, dans la libération des enzymes dans le courant sanguin. Selon la publication de GHIRCOIASCU et coll. (181), l'administration sous-cutanée de CCl₄ pendant huit jours à des Rats, est suivie de l'augmentation du taux de G.P.T. dans le foie mais aussi au niveau des téguments. Chez des Rats en état de gestation, le tétrachlorure de carbone cause une augmentation de G.P.T. dans le sang, le liquide amniotique et le placenta [GOETZE et GOETZE (187)].

Les cobayes semblent plus sensibles à CCl₄ que les Rats; l'augmentation de G.P.T. est très forte et il y a réduction du rapport des deux activités transaminasiques [GODBERG et MAKHOUSKII (189)].

Chez des Lapins, quelques heures après leur exposition à 500 p.p.m. de CCl₄, apparaissent une baisse sérique de G.O.T. suivie d'une élévation au-dessus de la normale à la 8^e heure et une hausse marquée de G.P.T. à la 16^e heure suivie d'une baisse considérable à la 24^e heure [DINMAN et coll. (131)]. FRANKL et coll. (166) remarquent dans des circonstances semblables une augmentation de G.O.T. et G.P.T. sériques maximum entre la 5^e et la 48^e heure. CIOCCI (96) rapporte qu'il n'a jamais constaté de différences significatives entre le taux de ces transaminases dans le sang prélevé respectivement dans l'artère et dans la veine rénale efférente chez des Lapins préalablement intoxiqués par le tétrachlorure de carbone. HRUZIK et LANGER (221), CARACRISTI et de SAINT-PIERRE (85) ont repris ces dosages chez des Lapins intoxiqués au CCl₄ par voie gastrique.

BUCK et coll. (70) notent des élévations appréciables dans l'activité de G.O.T. sérique, accompagnant les symptômes toxiques et les lésions rénales et hépatiques du Mouton recevant du CCl₄ ou consommant des plantes telles qu'*Astragalus* ou *Psathyrotes*. GERMANYUCK (180) trouve des différences d'une espèce d'animal à l'autre dans la dis-

tribution des activités transaminasiques et met en évidence une élévation sérique chez les Moutons intoxiqués au CCl_4 .

Quel que soit l'animal envisagé : Chien, Mouton, Veau, Cheval, l'élévation sérique transaminasique est toujours reproduite lors de l'intoxication tétrachlorée [CORNELIUS et coll. (105)]. Il en est de même chez le Porc [AUGUSTINSON et coll. (22)].

Au cours d'hépatites virales, les mêmes variations que celles enregistrées après intoxication au CCl_4 ont été rapportées par RITIS et coll. (377), FRIEND et coll. (179) chez la Souris.

POLLAK (340) suit l'élévation de l'activité transaminasique du foie au cours de sa régénération.

MASCITELLI-CORIANDOLI et LANZANI (290) constatent que la diminution de G.P.T. hépatique sous l'influence de CCl_4 est corrigée en partie par une administration appropriée de nucléotides alors que l'élévation sérique de G.O.T. et G.P.T. est réduite par l'administration d'acide ascorbique [SUVA (446)] ou du chlorure de méthyl-méthionine-sulfonée [SARTORI (407)].

Au point de vue clinique, de nombreuses publications ont été faites sur cette activité enzymatique; nous n'en mentionnerons seulement que quelques-unes :

SARIC et coll. (404) remarquent que chez les ouvrières d'une fabrique de produits vétérinaires, exposées aux vapeurs de CCl_4 , l'augmentation de l'activité de G.P.T. dans le sérum indique l'atteinte toxique du foie. NEWHAUS et coll. (320) dosent la G.O.T. sérique chez un malade intoxiqué sévèrement par CCl_4 tandis que DAWBORN et coll. (120), dans le cas d'une ingestion accidentelle de tétrachlorure de carbone par un jeune Homme, notent une forte élévation de G.O.T. sérique, un retour à la normale au 9^e jour alors que l'histogramme hépatique n'est restauré que vers le 70^e jour.

BOIVIN et AUZERY (55) dressent tout un tableau des variations de la G.O.T. et de la G.P.T. sériques, au cours de différentes atteintes hépatiques : hépatites virales, cirrhoses éthyliques, hémochromatose, cancer du foie, obstruction des voies biliaires extra-hépatiques. Nous citerons enfin les travaux sur ces activités transaminasiques de MASON et WROBLEWSKI (291), de MOLANDER (303), de GAVOSTO (179), de RITIS et coll. (377, 379, 381) et de MARTIN (287).

Ornithine-Carbamyl-Transférase : Chez les Mammifères, elle est localisée presque exclusivement dans le foie (368). Selon REICHARD (363), dont les travaux sur cette activité enzymatique sont considérables, l'ornithine-carbamyl-transférase ou O.C.T. est présente en quantité importante dans le tissu hépatique et n'est pas décelée dans le cerveau, les poumons, la rate, le pancréas, les reins, les muscles striés, le muscle cardiaque du Chien. Il n'en existe que des quantités minimales dans la bile, l'estomac et le gros intestin; l'intestin grêle en renferme une quantité un peu importante qui reste cependant très faible par rapport au contenu hépatique. Chez l'Homme la même distribution est retrouvée (364).

Chez le Chien intoxiqué au tétrachlorure de carbone, un pic d'activité ornithine-carbamyl-transférase est obtenu dans le sang vers le 2^e jour, et peut s'élever jusqu'à 4 000 fois sa valeur normale; la ligature du cholédoque entraîne une élévation plus lente, maximum vers le 4^e jour et moins importante; la libération ensuite de la voie biliaire entraîne un retour rapide à la normale [REICHARD (363)]. ROSSI et Mac LEAN (389) dosent les enzymes du cycle de l'urée dans le foie de Rat intoxiqué au CCl_4 , à savoir la carbamylphosphate-synthase, l'ornithine-carbamyl-transférase, l'arginine-synthase, l'argino-succinase et l'arginase et constatent en particulier que 90 minutes après l'administration du toxique par tubage gastrique, il se produit une augmentation des deux enzymes contenues dans les mitochondries : l'O.C.T. et la carbamyl-phosphate-synthétase. Poursuivant leurs travaux, McLEAN et ROSSI (281) retrouvent une augmentation de l'O.C.T. hépatique une heure et demie après l'administration de CCl_4 , suivie à la 24^e heure d'une chute très marquée d'environ 50 p. 100; chez les animaux surré-

nalectomisés, ou ayant reçu des injections d'acétate de corticostérone et d'hydrocortisone, il n'y a pas de changement significatif trois heures après l'intoxication tétrachlorée.

NEUMAN et coll. (318) découvrent chez des Cobayes intoxiqués au CCl_4 une augmentation d'activité O.C.T.asique sérique, maximum vers la 48^e-72^e heure après l'injection, concordant avec la chute optimum hépatique. FORD et LAWRENCE (163) donnent des doses très faibles de CCl_4 par voie orale pendant 30 jours à des Agneaux, vérifient les lésions hépatiques par biopsies et notent une augmentation élevée mais brève de cette activité enzymatique dans le sérum.

CRISTOL et coll. (112), étudiant quelques activités enzymatiques du sang chez le Chien avant et après intoxication tétrachlorée, mettent en évidence une hyperornithyl-carbamyl-transférasémie, dénotant une souffrance fonctionnelle hépatique et persistant même au 8^e jour, alors que les activités dipeptidasiques et G.O.T. sont déjà revenues à la normale et que la G.P.T., la phosphatase alcaline et l'arginase sériques ont légèrement régressé. TRUHAUT et DELARUE (460), en dosant les aminoacides libres plasmatiques, constatent une augmentation du taux de l'ornithine maximum deux jours après l'injection de tétrachlorure de carbone; il y aurait accumulation de l'ornithine dans le foie due à la disparition de l'ornithine-carbamyl-transférase hépatique et cette ornithine passerait dans la circulation générale. FLORES et coll. (162) étudient, chez le Rat, les activités enzymatiques du foie dans la fixation de l'ammoniac, à savoir : l'ornithine-carbamyl-transférase, la carbamyl-phosphate-synthétase, l'arginine-synthétase, l'arginase, la glutamico-déshydrogénase, la glutamine-synthétase et constatent que les Rats atteints d'hépatite chronique ou aiguë au CCl_4 , ou bien nourris avec un régime pauvre en protéines, présentent une diminution spécifique de la totalité de ces enzymes testées.

MORETTI et coll. (308) ont mesuré la teneur en O.C.T. du foie sur fragments recueillis par ponction-biopsie chez l'Homme atteint d'hépatite et chez le Chien intoxiqué au tétrachlorure de carbone : c'est la charge fermentaire endo-hépatique; ils ont dosé simultanément le taux sérique et déduit par différence le gradient hépato-sérique : au cours de l'hépatite virale, la hausse de l'O.C.T. dans le sérum va de pair avec la baisse de la charge endo-hépatique et alors que le taux sérique revient à la normale, a lieu une recharge endo-hépatique. La cytolysé hépatique au CCl_4 s'exprime par une baisse de charge endo-hépatique avec hausse sérique; au cours de la guérison, les charges se restaurent et les taux sériques reviennent à la normale.

Cette activité enzymatique a été encore dosée par ces mêmes auteurs [MORETTI et coll. (306)] dans le sérum de Femmes après accouchements normaux et après ceux ayant nécessité une anesthésie au chloroforme; cette activité ne s'élève dans le sérum que dans les groupes de Femmes ayant reçu du chloroforme; ce dosage est sensible et spécifique de la souffrance hépatique que provoque l'anesthésie au chloroforme en obstétrique.

En clinique, de nombreux autres travaux ont montré que les variations sériques de cette enzyme étaient un moyen de détecter les dommages hépato-cellulaires [BROWN et GRISOLIA (63), VANNUCHI et coll. (473), REICHARD (366), BALLAN et coll. (26), DEMANGE et coll. (124), MORETTI et coll. (307, 309)] : l'O.C.T. s'élève dans le sérum au cours des hépatites aiguës, alors qu'elle reste pratiquement normale au cours des cirrhoses et des ictères par obstruction; parallèlement, le taux de l'enzyme baisse dans le foie au cours des hépatites.

Cette activité enzymatique ornithine-carbamyl-transférasique du sérum est, selon MORETTI et coll. (310), AUZÉRY et coll. (23), une expression spécifique de la cytolysé hépatique.

Enzyme acétylant : Le tétrachlorométhane diminue la faculté d'acétylation du foie, le tétrachloropentane et le tétrachlorohexane l'augmentent alors que le tétrachloropropane ne la modifie pas [GARKAVI (178)]. De même, selon BURUANA et coll. (71), un traitement au tétrachlorure de carbone cause une réduction de l'activité de l'enzyme acé-

tylant hépatique. Par contre, les travaux de GREBENNIKOVA (192) sur l'activité des enzymes acétylantes des foies de Rats et de Pigeons intoxiqués par de nombreuses doses de CCl_4 révèlent une augmentation de 35 p. 100 de la fraction protéinique de ces enzymes (apoenzyme) et une augmentation de 35 p. 100 du Coenzyme A.

Phosphoryl-choline-glycéride-transférase : Selon KENNEDY (238) et WILGRAM (499), la phosphoryl-choline-glycéride-transférase est nécessaire pour catalyser la réaction suivante : cytidine-diphosphate-choline + D,1,2,diglycéride $\longrightarrow$ lécithine, et cette synthèse phospholipidique est bloquée par l'inhibition de cette activité enzymatique du foie de Rats par le tétrachlorure de carbone.

Glucuronyl-transférase : L'injection intrapéritonéale de CCl_4 , comme l'ont montré ISSELBACHER et Mac CARTHY (224), produit une réduction de la capacité du foie à former des glucuronides. Ce phénomène est observé en mesurant *in vitro* la formation de paranitrophénolglucuronide et apparaît dans les deux heures après l'injection; ces auteurs pensent que l'activité glucuronyltransférase des microsomes est altérée quantitativement plutôt que qualitativement. CHOJECKI et KERN (91, 92) étudient chez des Rats atteints d'hépatites produites par un régime déficient en protéines, ou par intoxication soit aiguë, soit chronique au CCl_4 , l'activité glucuronyltransférase d'homogénats de foie en les mettant incuber en présence d'acide diphosphoglucuronique, de bilirubine et de phénolphtaléine : alors que la conjugaison glucuronidique de la bilirubine est affectée par l'hépatite nutritionnelle et l'hépatite au CCl_4 aiguë ou chronique, celle de la phénolphtaléine n'est diminuée que par CCl_4 . VAISLER et coll. (471) trouvent que la conjugaison du benzoate de soude avec l'acide glucuronique est diminuée sous l'influence du tétrachlorure de carbone et que l'hormone pinéale et la vitamine B_{12} protégeraient cette activité détoxifiante du foie.

TAKETA (448) constate, par contre, une élévation de la glucuronyl-transférase dans le foie 12 à 24 heures après l'injection tétrachlorée.

Phosphoglucumutase : Selon CAIRELLA et URBINATI (74) et COL-TORTI et GIUSTI (99, 100), elle est absente du sérum de Rat normal et après intoxication aiguë au tétrachlorure de carbone, elle apparaît et augmente progressivement jusqu'à atteinte d'un maximum vers la 30^e heure. D'après l'école italienne de De RITIS (380), cette activité enzymatique, lors de l'hépatite virale de la Souris, diminue de moitié dans le parenchyme hépatique à la fin du 4^e jour après l'inoculation et augmente progressivement dans le sérum du 3^e au 4^e jour. Elle est absente du sérum du sujet normal et est modérément élevée dans quelques cas d'hépatites virales humaines.

C. — OXYDO-REDUCTASES.

TRANSHYDROGÉNASES : 1) *Transhydrogénases oxytropes*

Mono-amine-oxydase : STERN et BRODY (440) trouvent que $98,3 \pm 5$ p. 100 de l'activité mono-amine-oxydasique sont conservés dans le foie de Rat lors de l'intoxication tétrachlorée. TRUHAUT et coll. (458), après avoir intoxiqué des Rats au CCl_4 , ne décèlent aucune activité mono-amine-oxydasique dans le plasma même après isolement des fractions protéiniques réputées riches en enzyme. Ces auteurs pensent, de plus, qu'il existe une relation entre la vitesse d'oxydation des amines et le degré de l'intoxication tétrachlorée; l'oxydation de l'adrénaline et de la noradrénaline serait catalysée par une substance de nature protéinique dont le taux plasmatique serait augmenté lors de l'intoxication; peut-être s'agirait-il d'une oxydase telle que la céruloplasmine ?

Toujours au cours de la nécrose au CCl_4 , HEIM et coll. (205) constatent une baisse dans l'intensité de l'oxydation de la tyramine du foie.

2) *Transhydrogénases anoxytropes*

a) *Déshydrogénases à N.A.D.*

Alcool-déshydrogénase : Cette enzyme très étudiée dans le foie par

BONNISCHEN et BRINK (57) n'existe pas à l'état normal dans le sérum mais apparaît dès qu'une lésion hépatique sévère survient, l'hépatite virale par exemple.

LANGE et KUHNE (263) étudient le turn-over de l'alcool chez des Rats blancs après leur avoir administré par voie orale ou sous-cutanée du tétrachlorure de carbone et trouvent que la concentration maximum du sang en alcool est atteinte plus lentement et qu'ensuite sa baisse en est retardée surtout chez les animaux ayant reçu ce toxique par voie orale. FIGUEROA et KLOTZ (154 bis) étudient les variations de l'alcool-déshydrogénase dans le foie de Rats intoxiqués par différents poisons tels que l'alcool, l'éthionine, le bromobenzène, le tétrachlorure de carbone et notent une baisse très marquée de plus de 50 p. 100 seulement dans le cas de l'intoxication tétrachlorée. WOLFSON et coll. (501) rapportent que lors de l'intoxication aiguë au CCl_4 , il y a une augmentation de l'alcooldéshydrogénase dans le sérum et une baisse dans le tissu hépatique. WARTBURG et ROTHLSBERGER (495), après avoir traité des Rats par une surcharge prolongée en éthanol et en méthanol, ne constatent pas de modification du taux de cette enzyme dans le foie.

Sorbitoldéshydrogénase : Cette enzyme est très intéressante dans le domaine de la pathologie hépatique, car on en a trouvé une quantité importante dans le foie et faible dans les autres organes tels que les reins, le cœur, le cerveau [BLACKLEY (49)]. De plus il n'en existe pas dans le sérum et son apparition y indique par conséquent de façon relativement spécifique une atteinte du foie.

C'est ainsi qu'une forte quantité de cette enzyme est détectée par BRUNS et JACOB (65) dans le sérum de Souris intoxiquées au tétrachlorure de carbone par voie intrapéritonéale, et que LINDBERG et coll. (274), étudiant cette même activité enzymatique dans le sérum, le foie et les reins de Porcs intoxiqués par tubage gastrique au CCl_4 , en notent une forte et rapide augmentation dans le sérum.

Ces mêmes résultats ont été obtenus chez le Rat par HARTL et coll. (200), ASADA et GALAMBOS (18).

Enfin les travaux de DOBIS et coll. (134), portant sur l'activité sorbitoldéshydrogénase du sérum chez des Chiens intoxiqués au CCl_4 , révèlent qu'elle augmente fortement aussitôt après l'administration du toxique, qu'elle atteint un maximum au 2^e jour et reprend sa valeur normale à partir du 11^e jour. VIDO et NIEDERLAND (478, 479), chez des Chiens rendus cirrhotiques par l'administration de CCl_4 tous les 4 jours pendant 6 mois, mettent en évidence une augmentation dans le sérum de l'activité sorbitoldéshydrogénase maximum le 32^e jour et revenant à la normale après 48 jours.

HOSCHI (218) étudie le métabolisme du glucose marqué C_{14} , du fructose et du sorbitol chez les animaux intoxiqués au tétrachlorure de carbone et rendus diabétiques par l'alloxane et trouve que le sorbitol est facilement utilisé même dans ces conditions expérimentales.

COLTORTI (103) note une augmentation très nette de cette activité enzymatique dans le sérum de Souris auxquelles il a inoculé le virus MHV-3. Enfin, en clinique humaine, ASADA et GALAMBOS (18) ont aussi étudié l'activité sérique de cette enzyme : une valeur élevée est détectée chez presque tous les malades atteints d'hépatites virales et dans la moitié des cas des cirrhotiques. Aucune élévation n'était trouvée chez des malades atteints d'infarctus du myocarde.

Lactico-déshydrogénase : Cette enzyme existe à l'état normal dans le sérum animal et humain; le rein, le muscle en contiennent des quantités relativement importantes, le foie et le cœur beaucoup moins [WROBLEWSKI et LA DUE (506)].

Chez le Rat survient, au cours de l'intoxication tétrachlorée, une élévation sérique importante de cette activité enzymatique maximum au bout de 24 heures : 160 U. chez les témoins et jusqu'à 30.000 U chez les traités [De NICOLA et coll. (321)].

Ces mêmes résultats sont retrouvés chez la Souris par BRUNS et WOLLENWEBER (69) et chez le Rat par HARTL et coll. (200), SCHULZE (417) et NICORA et coll. (322). Chez des Lapins exposés pendant 5 heu-

res à des vapeurs de CCl_4 , il y a aussi accroissement de l'activité lactico-déshydrogénasique sérique et atteinte d'un maximum entre la 5^e et la 48^e heure [FRANKL et coll. (166)].

Par contre, BARTOK et coll. (28) ne trouvent pas de modifications de l'activité lactico-déshydrogénasique dans les foies de Rats rendus cirrhotiques par des injections sous-cutanées de CCl_4 deux fois par semaine pendant 19 semaines.

Malicodéshydrogénase : Cette enzyme est répartie en quantité équivalente dans le cytoplasme et les mitochondries [CHRISTIE et JUDAH (93)].

Chez le Rat, l'intoxication au tétrachlorure de carbone engendre une nette élévation de son taux sérique maximum dès le premier jour et une baisse hépatique bien apparente le 3^e jour [De NICOLA et coll. (321)]. L'augmentation de cette activité enzymatique du sérum sous l'influence de CCl_4 a été aussi constatée chez le Rat par BRUNS et WOLLENWEBER (69), HARTL et coll. (200), REES et SINHA (360).

Glutamodéshydrogénase : Chez le Rat, cette enzyme, dont la localisation normale est mitochondriale, apparaît dans le sérum 12 heures après l'administration orale de tétrachlorure de carbone [REES et SINHA (360)].

FORD et LAWRENCE (163) administrent du CCl_4 oralement pendant trente jours à des Agneaux, contrôlent par biopsie la lésion centrolobulaire du foie et mettent en évidence une élévation de la concentration sérique en glutamodéshydrogénase.

De RITIS (385) s'est intéressé à l'activité de la *glycérophosphate-déshydrogénase* du foie au cours de la nécrose hépatique chez la Souris produite par l'injection intrapéritonéale d'une seule dose de CCl_4 : cette activité qui est de 162 unités par mg de protéines dans le foie normal diminue progressivement et nettement, atteignant 133 unités dès la 30^e heure et 35 unités à la 90^e heure.

b) Déshydrogénases à N.A.D.P.

Isocitricodéshydrogénase : HOGEBOM et SCHNEIDER (215) ont montré que dans le foie elle est surtout localisée dans la portion soluble de l'homogénat (80 p. 100) et seulement 12 p. 100 dans les mitochondries. REES et SINHA (360) constatent chez le Rat une augmentation du taux sérique de cette enzyme 6 heures après l'injection du tétrachlorure de carbone. STERKEL et coll. (439) remarquent chez des Rats intoxiqués au CCl_4 une augmentation dans le sang à plus de 150 fois son taux initial, avec un décalage dans le temps suivant le sexe : maximum entre la 24^e et la 32^e heure chez le mâle et plus précoce chez la femelle. Au bout de 48 heures, il ne reste plus dans le foie que 40 p. 100 de l'activité enzymatique initiale. Selon ces auteurs, il y aurait eu passage prolongé de cette enzyme, de la cellule hépatique lésée vers le sang.

Selon CORNELIUS (104), l'activité isocitricodéshydrogénasique est localisée dans le foie, le rein, le cœur et le muscle squelettique d'animaux domestiques d'espèces variées et elle s'élève dans la nécrose expérimentale au tétrachlorure de carbone, chez le Chien, le Veau, le Mouton et dans plusieurs cas cliniques d'hépatopathie du Cheval. SMITH et COOTE (430) étudient au cours de lésions expérimentales du foie produites chez le Rat par CCl_4 et la thioacétamide, les déshydrogénases à l'aide de réactions histochimiques : entre 6 et 12 heures il se produit une augmentation évidente, au centre du lobule, du produit de la réaction de l'isocitricodéshydrogénase, enzyme à localisation cytoplasmique tandis qu'entre la 18^e et la 24^e heure la succinocotétrazolum-réductase présente une perte d'activité enzymatique mitochondriale dans les cellules centrolobulaires nécrotiques et une légère augmentation dans la zone adjacente.

En clinique humaine, nous citerons seulement les travaux de WHITE (498), KERPOLA et coll. (240), STERKEL et coll. (439) qui mentionnent les variations de cette activité enzymatique au cours de diverses maladies hépatiques.

Glucose-6-phosphate-déshydrogénase : ROSSI et ZATTI (390) remarquent qu'après une seule injection de CCl_4 il se produit une augmentation des lipides totaux hépatiques significative dès la 10^e heure et une élévation de l'activité glucose-6-phosphate-déshydrogénasique vers la 17^e heure; celle-ci serait due peut-être à l'action directe de CCl_4 ou bien à l'altération mitochondriale ou à la diminution du coenzyme, le D.P.N. TAKESHITA et IWAI (447) étudient la conversion du nucléoside en sédoheptulose monophosphate par le foie de Souris lésé par CCl_4 et constatent que la capacité du foie à former le sédoheptulose monophosphate a considérablement décréu, alors que l'activité glucose-6-phosphate-déshydrogénasique est augmentée de façon significative.

ISSELBACHER et JONES (225) se sont intéressés aussi aux altérations du métabolisme du glucose au cours de lésions virales et toxiques du foie : que ce soit après inoculation à la Souris du virus MHV-S ou bien après injection de CCl_4 , l'activité de la glucose-6-phosphate-déshydrogénase du foie augmente tandis que celle de l'isocitricodéshydrogénase diminue remarquablement.

c) Déshydrogénase à flavine-nucléotide.

Succino-déshydrogénase : Cette enzyme fait partie du cycle de Krebs et est un constituant universel de la cellule qui dans les tissus des Vertébrés est presque exclusivement présent dans les mitochondries [SCHNEIDER (413)].

GIUSTI et COLTORTI (183) rapportent que dans la nécrose hépatique aiguë au CCl_4 , l'activité succino-déshydrogénasique reste absente dans le plasma alors qu'elle diminue nettement dans le tissu hépatique. ZUGRAUESCU et coll. (520) constatent, dans le foie de Rats ayant reçu une simple dose de CCl_4 , une faible intensification de cette activité puis une chute soudaine et un retour à la normale à la fin du 15^e jour. ZOLLNER et coll. (516) rapportent une baisse de 50 p. 100 de cette activité dans le foie de Souris nécrosé par le tétrachlorure de carbone; chez le Rat, la valeur la plus basse est atteinte vers la 10^e heure après l'injection intrapéritonéale. LEDUC et WILSON (268), THOMSON et MOSS (454), ZOLLNER et RAISICH (517) notent le même phénomène, décroissement de l'activité enzymatique pendant 3 jours après l'administration tétrachlorée et augmentation graduelle ensuite. HEBERT et coll. (203) attribuent la chute de l'activité succinodéshydrogénasique du foie non à une inhibition par le tétrachlorure de carbone mais à la disparition d'une grande partie des chondriosomes. Alors que SMUCKLER et BENDITT (433) n'apprécient aucune altération de ce système enzymatique quelques heures après l'administration de CCl_4 , SUH (445) remarque après injection intrapéritonéale de tétrachlorure de carbone, soit aiguë, soit chronique, à des Rats, que le taux de consommation d'oxygène diminue graduellement dans le foie et que l'activité succino-déshydrogénasique a tendance à décroître.

SPRINZ et WALDSCHMIDT-LEITZ (490) ont obtenu des changements différents du taux hépatique de cette enzyme après administration d'agents variés tels que CCl_4 , l'alcool éthylique, la phénylhydrazine, la thioacétamide. EGER et KURTH (149) ont retrouvé histochimiquement un ralentissement de l'activité succinodéshydrogénasique du foie après intoxication à l'alcool allylique ou au tétrachlorure de carbone.

TRANSÉLECTRONASES

Oxydases : HOGEBOOM et coll. (214) localisent l'activité cytochrome-oxydasique et succinoxydasique du foie principalement dans les mitochondries. CHRISTIE et JUDAH (93) retrouvent ce même résultat pour l'activité choline-oxydasique.

Les travaux de RAHMAN et AHMAD (351), portant sur la *succinoxydase*, la *xanthine-oxydase*, la *choline-oxydase* et la *d-amino-acidoxydase* du foie de Rats normaux et intoxiqués au CCl_4 révèlent que seule l'activité succinoxydasique est inhibée par le tétrachlorure de carbone.

TSUBOI et STOWELL (463) notent au cours de la nécrose hépatique au CCl_4 une baisse dans le foie de Souris du taux de la succinoxy-

dase et de la *cytochrome-oxydase*. FRIEDE (168) étudie la répartition histochimique des lipides, de l'activité succinico-déshydrogénasique et cytochrome-oxydasique dans les foies de Rats et de Chiens intoxiqués au CCl_4 et constatent une relation strictement inverse entre l'apparition de la dégénérescence graisseuse et l'activité des enzymes oxydatives du lobule hépatique; il remarque également que ces activités sont localisées surtout dans les zones périphériques du lobule. REES et SMITH (362) trouvent que les graisses extraites des foies de Rats, qui ont reçu du tétrachlorure de carbone 6 heures avant, possèdent une faible mais significative activité succinoxydasique et concluent qu'il s'est produit une légère attaque des mitochondries du foie 6 heures après l'administration du toxique et que quelques enzymes mitochondriales sont adsorbées sur les lipides hépatiques qui sont principalement des graisses neutres. Selon DIANZANI (126), les activités succinoxydasique et d-amino-acidoxydasique du foie ne sont pas modifiées lors de la stéatose au CCl_4 alors qu'elles subissent une chute après traitement à l'huile phosphorée.

La xanthine-oxydase du foie est activée et la xanthine-déshydrogénase est partiellement inhibée par l'injection d'une seule dose de CCl_4 , ces deux enzymes étant réparties à l'état normal dans le surnageant : les auteurs de ces travaux [VILLELA et MITIDIERI (487, 488)] retrouvent aussi ces résultats significatifs *in vitro*; l'éthanol, le chloroforme et l'éther produisent aussi cet effet et l'activation par CCl_4 serait due à la rupture du complexe lipoprotéique de l'enzyme et des autres constituants cellulaires. AFFONSO et coll. (5) constatent que le tétrachlorure de carbone, mélangé *in vitro* avec du sérum sanguin de Rat, produit une forte activation de l'activité xanthine-oxydasique de 120 p. 100 et xanthine-déshydrogénasique de 38,5 p. 100 et que d'autre part les activités enzymatiques augmentent dans le sérum de Rat 20 à 25 heures après l'injection *in vivo* de CCl_4 puis reviennent à la normale progressivement vers la 35^e heure.

Par contre, selon CORNISH et BLOCK (108, 109), chez des Rats exposés à des vapeurs de CCl_4 , survient au bout de 48 heures une élévation dans le sérum de l'activité xanthine-oxydasique mais aussi une baisse dans le foie.

Chez des Cobayes présentant une nécrose et une dégénérescence graisseuse du foie dues à l'injection de CCl_4 , HEIM et coll. (205) détectent une chute d'activité hépatique de l'amino-oxydase, du coenzyme A.

Selon GINOULHIAC et TENCONI (182), l'intoxication au CCl_4 ainsi que celle à l'amanite phalloïde diminue l'activité de la *tryptophane-peroxydase-oxydase* du foie de Rat.

Alors que UCHIO (465) note l'inhibition de l'activité choline-oxydasique du foie par CCl_4 , qui est contrecarrée par l'administration de F.A.D. et F.A.M., HOVE et HARDIN (219) remarquent que cette activité n'est pas influencée par ce même toxique.

L'activité *quinine-oxydasique* a été évaluée aussi après intoxication au CCl_4 dans le foie et le plasma de Lapins par VILLELA (484). Selon BALAZS et coll. (25), qui ont étudié cette même activité enzymatique dans le sérum au cours d'administration d'agents hépatotoxiques tels que le tétrachlorure de carbone, la thioacétamide, l'éthionine, l'alcool allylique, la diméthylnitrosamine, l'évaluation de cette activité est capable de détecter une dégénérescence cellulaire faible.

En clinique humaine, selon ROMAN et DULMANIS (388), le dosage de l'activité quinine-oxydasique est un test spécifique de la lésion du parenchyme hépatique aussi bien dans le cas d'hépatite toxique ou virale que de jaunisse obstructive.

Diaphorases et Réductases : Les activités des *di* et *triphosphopyridine-nucléotide-diaphorases* et des *cytochromes-b* et *c-réductases* sont approximativement normales dans le foie de Souris lésé par le tétrachlorure de carbone alors que l'activité de la D.P.N. oxydase est aussi normale et que celle de la T.P.N. oxydase est réduite de 75 p. 100 [BLUME et coll. (52)]. L'activité diphosphopyridine-nucléotide-diaphorase (D.P.N.D.) est relativement élevée dans la zone moyenne du lobule du foie de Rat normal et nulle dans la partie centrale; dans le

foie rendu cirrhotique par l'administration de tétrachlorure de carbone, ces différences disparaissent [BARTOK et coll. (29)]. Selon les travaux de REES et SHOTLANDER (358), la cytochrome-réductase est localisée dans le réticulum endoplasmique et l'administration par tubage gastrique de CCl₄ à des Rats produit une augmentation rapide de son activité non seulement dans le sérum, maximum entre la 2^e et la 6^e heure, mais aussi dans le foie maximum à la 6^e heure.

Le contenu en cytochrome-c est d'autre part plus bas dans le foie de Rats et de Lapins traités par le tétrachlorure de carbone que chez les témoins [DIANZANI et VITI (129)]. Il en est de même pour le glutathion réduit (G.S.H.) dont la baisse apparaît, dans le foie lésé par CCl₄, vers la 6^e heure et atteint un maximum vers la 24^e heure [VARGA (474)]. Selon les travaux de KERPOLA (240), la *glutathion-réductase* s'élèverait dans le sérum au cours des hépatites aiguës.

PEROXYDASES ET CATALASES

Catalase : FOURCADE et ROSENBERG (164) ont déterminé la teneur en catalase d'un foie de Rat normal et sa répartition entre les différentes fractions cellulaires : un foie moyen de 10,5 g contient 215 mg de catalase soit 20,5 mg/g de foie frais, ce qui représente un véritable stockage de cette enzyme excédant de beaucoup les quantités catalytiques usuelles; cette activité enzymatique se distribue entre les mitochondries et le cytoplasme suivant « un coefficient de partage » de l'ordre de 13 pour les mitochondries moyennes et de 5,3 pour les grandes mitochondries. MILLER (300) étudie de même la localisation de la catalase du foie de Souris.

ADAMS et ROE (4), expérimentant l'action de plusieurs substances chimiques sur l'activité catalasique du foie, remarquent que le 3-méthyl-4-diméthyl-azobenzène affecte cette activité sans causer de lésion hépatique, que le tétrachlorure de carbone produit une baisse de ce taux enzymatique et lèse le foie et que l'azobenzène est inactif sur ces deux points. KUMATE (254) rapporte, chez des Rats intoxiqués au CCl₄, une élévation progressive dans le sérum de cette activité vers la 6^e heure qui atteint un maximum vers la 20^e heure (10 fois la valeur normale) et revient, vers le 4^e-5^e jour, à la normale.

PROKOPOWICZ (348, 349), après une administration soit aiguë, soit chronique de CCl₄ à des Chiens, par tubage gastrique, observe une diminution de l'activité catalasique hépatique et érythrocytaire, alors que la teneur en azote du foie diminue et que le taux d'hémoglobine et le nombre des érythrocytes restent constants. Ces mêmes résultats sont retrouvés chez les malades cirrhotiques. SPRINZ et WALDSCHMIDT-LEITZ (436 bis) mettent en évidence sous l'action du tétrachlorure de carbone une chute de la catalase hépatique, chez le Rat et la Souris, tandis que GREENSTEIN et coll. (193) trouvent un parallélisme frappant entre l'activité relative du tissu hépatique fœtal par rapport à l'adulte et celle de la tumeur hépatique par rapport au foie normal de Rat.

D. — LYASES ET SYNTHÉASES.

Décarboxylases. Uricase : L'uricase, catalysant la décarboxylation oxydative de l'acide urique en produits encore non complètement identifiés, est localisée dans les mitochondries du foie et des reins des Vertébrés (sauf l'Homme et les Singes supérieurs). Dans le foie de Rat, elle ne serait ainsi pas localisée dans les lysosomes [De DUVE (143)].

L'activité uricasique du foie de Rat normal est de 29,1 (exprimé en μ moles de substrat hydrolysé/mg d'azote/mn), de 32,6 à la 24^e heure et seulement de 11,4 à la 144^e heure après l'administration tétrachlorée [UGAZIO et coll. (470)]. Selon THOMPSON et MOSS (454), l'administration orale de tétrachlorure de carbone produit une diminution de l'activité uricasique dans le foie de Rat vers le 4^e jour suivie d'une augmentation.

Aldolases : Selon SCHAPIRA (409), il existe deux types d'activité aldolasique présents dans le foie et dosables dans le sérum : la

1-6-phosphofructaldolase (F.1.6.P.) qui catalyse la transformation du fructose-1-6-diphosphate en phosphodihydroxy-acétone et en phosphoglycéraldéhyde et la *1-phosphofructoaldolase* (F.1.P.) qui catalyse la conversion du fructose-1-phosphate en glycéraldéhyde et en phosphodihydroxyacétone. Ces deux activités enzymatiques s'élèvent nettement à la 18^e heure après l'injection intrapéritonéale de tétrachlorure de carbone, dans le sérum de Rats et de Souris, et il y a dans ce cas-là égalisation approximative de la vitesse de scission du F.1.P. et du F.1.6.P. ce qui est caractéristique de l'aldolase hépatique.

Chez des Souris intoxiquées au tétrachlorure de carbone, BRUNS et PULS (68) constatent une élévation sérique du taux de la fructose 1-phospho-aldolase, atteignant un maximum à la 20^e heure et allant jusqu'à 2.000 fois le chiffre de base, tandis que BRUNS et NEWHAUS (66) remarquent que l'activité 1-6-phospho-fructo-aldolasique du sérum augmente au bout de quelques heures atteignant un maximum entre la 18^e et la 20^e heure et qu'elle revient brusquement puis progressivement à la normale le 3^e-4^e jour. Cette élévation d'activité sérique, lors d'hépatites tétrachlorées, est relevée aussi par HARTL et coll. (200), BLÜGERS et coll. (50).

CAIRELLA et URBIMATI (74) apprécient chez le Rat une chute de l'activité aldolasique dans le foie et une augmentation concomitante dans le sérum, alors que De NICOLA et coll. (321) rapportent une augmentation caractéristique dans le sérum maximum vers la 24^e heure et une diminution modérée dans le foie, les reins, le cœur, les muscles. SARTORI et MOLINA (405) déterminent l'activité aldolasique dans le sérum et quelques organes, à savoir : le cerveau, les reins, le foie, le myocarde, le muscle squelettique du Rat normal et intoxiqué par injection intrapéritonéale de tétrachlorure de carbone et mettent en évidence un remarquable accroissement dans le sérum et une diminution constante seulement dans le cerveau. SIBLEY et coll. (425), après avoir produit une nécrose hépatique chez le Rat par inhalation de vapeurs de tétrachlorure de carbone, publient que le taux de l'aldolase qui est de 40 à 100 unités/ml de sérum augmente à 200-300 unités vers la 6^e heure, puis continue de monter ensuite atteignant 600 à 1.000 unités/ml; ces auteurs constatent que le degré de lésion hépatique est parallèle à cette exaltation du pouvoir enzymatique du sérum. SCHAPIRA et coll. (409), EICKSTEDT (150) montrent l'apparition dans le sérum de la phospho-fructoaldolase au cours d'hépatites expérimentales au CCl₄ chez le Rat et la Souris.

SIBLEY et FLEISHER (425), BRUNS et PULS (68) se sont intéressés à l'étude clinique des variations de l'activité fructose 1-6 phosphoaldolasique du sérum : une nette élévation précoce apparaît dans les cas d'hépatites aiguës humaines alors qu'aucune variation n'est décelée au cours des cirrhoses. De plus selon WOLF et coll. (500) ainsi que pour SCHAPIRA (409), la 1-phospho-fructo-aldolase est très élevée dans les hépatites humaines et serait plus spécifique de l'atteinte hépatique que la fructose-1-6-phosphoaldolase qui augmente surtout dans l'infarctus du myocarde, les affections musculaires.

Hydratases et déshydratases. Enolase : COLTORTI et GIUSTI (102) constatent après intoxication chez la Souris par injection intrapéritonéale de tétrachlorure de carbone, que l'activité enolasique du plasma augmente rapidement, atteignant un maximum équivalant à quatre fois la valeur normale vers la 24^e heure puis qu'elle revient à la normale vers la 60^e heure. Ces auteurs s'aperçoivent que le pic d'activité coïncide avec la période de la nécrose massive des cellules hépatiques. De RITIS et coll. (384) découvrent le même phénomène lors de l'hépatite virale.

Aconitase et fumarase : GIUSTI et COLTORTI (183) rapportent qu'au cours de la nécrose hépatique au tétrachlorure de carbone, l'activité fumarasique du sérum est très augmentée alors que l'activité aconitasique reste nulle; de plus dans le tissu hépatique, il y a au même moment une diminution remarquable de la fumarase et seulement modeste de l'aconitase. CAIRELLA et URBIMATI (74) notent aussi au

cours de l'intoxication tétrachlorée une diminution sensible de ces deux enzymes dans le foie et une augmentation de la fumarase dans le sérum.

E. — ISOMERASES ET RACEMASES.

Phospho-glucomutase : COLTORTI et GIUSTI (99, 100) retrouvent au cours des intoxications expérimentales par le tétrachlorure de carbone une nette élévation de l'activité phospho-glucomutase du sérum qui se manifeste progressivement et est maximum au bout de 30 heures. CAIRELLA et URBIMATI (74) constatent que l'on peut mettre en évidence chez la Souris une activité phospho-glucomutase dans le sérum vers la 24^e heure après l'administration de CCl_4 , alors que cette enzyme est absente dans le sérum de Souris normale.

Selon De RITIS et coll. (383), cette enzyme est absente du sérum de sujet normal, et est modérément élevée dans la majorité des cas d'hépatites virales aiguës.

Phosphohexose-isomérase : Dans le sérum de malades atteints d'hépatite virale et de Souris intoxiquées au tétrachlorure de carbone, se produit une augmentation de l'activité phosphohexose-isomérase, augmentation qui a lieu par exemple quelques heures après l'injection de CCl_4 , qui atteint un maximum à la 18^e-20^e heure, suivi d'un retour rapide à la normale; dans le foie des animaux intoxiqués survient aussi une chute concomitante du taux de cette enzyme [BRUNS et NEWHAUS (66)]. Selon SCHOLLER et coll. (414), le tétrachlorure de carbone administré à des doses causant une nécrose hépatique aiguë produit une élévation aiguë mais transitoire de cette activité enzymatique dans le plasma. POGEL (338) ne note pas au cours d'hépatites virales chez la Souris une baisse notable de l'activité phosphohexose-isomérase des cellules hépatiques.

BRUNS et JACOB (65) constatent chez l'Homme, au début des hépatites aiguës une nette élévation de cette activité enzymatique sérique, puis un retour à la normale très lent, et ne décèlent aucun changement dans le cas de cirrhoses et d'ictères par obstruction.

II. — AUTRES MODIFICATIONS BIOCHIMIQUES.

Dans ce chapitre, nous résumons les travaux bibliographiques portant sur les variations biochimiques sériques et hépatiques, autres qu'enzymatiques observées au cours d'hépatites tétrachlorées.

Coenzymes : Lors de l'intoxication aiguë au tétrachlorure de carbone le taux de l'ubiquinone ou coenzyme Q, localisée dans les mitochondries, diminue dans le foie [AIYAR et SREENIVASAN (6), WADA et coll. (491)]. Selon VARGA (474), il en est de même pour le coenzyme A alors que GREBENNIKOVA (191) note des modifications dans un sens ou dans l'autre, selon le délai et le nombre d'administrations de CCl_4 .

Au cours de l'intoxication tétrachlorée, il y a aussi une fuite, à partir du foie, des nucléotides pyridiniques cytoplasmiques et mitochondriaux; ce phénomène est précoce et n'est pas simplement le résultat de la nécrose des cellules hépatiques et est inhibé par l'administration de prométhazine [GALLAGHER et REES (175)]. Selon DIANZANI (128), la concentration en pyridine-nucléotides du foie de Souris traitées au CCl_4 est fortement abaissée et le pourcentage de diminution est plus fort dans les mitochondries que dans l'homogénat entier; il y a une redistribution des nucléotides pyridiniques, caractérisée par le passage d'une partie de ces substances des mitochondries dans le surnageant.

Vitamines : L'intoxication tétrachlorée engendre une baisse du taux parenchymateux hépatique de la vitamine B_{12} et une hypercyanocobalaminémie que ce soit chez le Chien [STEIN et coll. (437, 438)], chez le Cobaye, le Rat, la Souris [WOLFF et coll. (500)], chez le Lapin [KATO et MURAKAMI (236, 237), ZECCA et coll. (512)]; il s'ensuit ensuite une forte élimination urinaire [YAMAMOTO et coll. (508)].

Sous l'influence de ce même toxique, il y a diminution dans le foie

de la concentration en riboflavine [KOKAWA (248)], en thiamine-phosphate [KIESSLING et TILANDER (242)], en acide ascorbique [BERNHEIM (47)].

Le fer : Selon REISSMANN et coll. (369), la sidérémie normale du Chien est de 79 gammas p. 100 alors que chez des Chiens intoxiqués oralement par du tétrachlorure de carbone, elle augmente nettement dès la 18^e heure atteignant un maximum au 2^e-3^e jour de 300 gammas p. 100. Par contre KENT et coll. (239) n'observent pas de modifications, sous l'influence de CCl_4 , de la réserve hépatique en fer.

Protides : Le tétrachlorure de carbone produit des modifications dans le taux et la répartition des protéines sériques et hépatiques :

Après administration d'une seule dose de ce toxique, il se produit une augmentation marquée du poids du foie et de la teneur hydrique ainsi que du phosphore et de l'azote du foie total [TSUBOI et coll. (464)]. OGATA (326), OGATA et KURODA (327) mettent en évidence une diminution de la sérum-albumine, une augmentation des β -globulines et l'action inhibitrice du tétrachlorure de carbone sur l'incorporation de la glycine dans les protéines du foie de Souris. Selon SMUCKLER et coll. (432, 433, 434), CCl_4 produit une diminution sévère dans la synthèse hépatique des protéines telles que le fibrinogène et l'albumine. Il y a modification du protéinogramme [KLEIN (244)], élévation marquée des β -lipoprotéines sériques [RIBEIRO (374)]. Selon ROBINSON et SEAKINS (386), le premier effet du tétrachlorure de carbone porterait sur la formation des lipoprotéines du plasma. HRUZ et SMETANA (220) apprécient les changements produits par CCl_4 dans l'électrophorégramme protéinique du foie : diminution des β_2 et γ -globulines et augmentation de β_1 et α_2 , tandis que MANSUROVA (284) observe dans le sérum sanguin une baisse du rapport albumine/globulines, une augmentation des α_2 , β_2 , γ -globulines et ensuite une baisse progressive.

L'intoxication aiguë au tétrachlorure de carbone se manifeste aussi par une baisse de capacité des microsomes à incorporer les acides aminés [SMUCKLER et BENDITT (431)] et par une augmentation générale du taux plasmatique des amino-acides [KNAUF et WINDSHEIMER (246)]. TRUHAUT et DELARUE (460) publient que l'injection intrapéritonéale de tétrachlorure de carbone cause d'importantes modifications du taux plasmatique des amino-acides libres, chez le Rat, en particulier de ceux intervenant dans la biosynthèse de l'urée : à la 24^e-48^e heure, augmentation très forte de l'ornithine, disparition presque totale de l'arginine accompagnée d'une augmentation générale de la thréonine, de la sérine, de l'asparagine, de la glutamine, de l'alanine, de la phénylalanine, du glyocolle et au 7^e jour, inversion des modifications de l'arginine et de l'ornithine et disparition du tryptophane. Selon ces auteurs, la disparition du tryptophane plasmatique au cours de l'intoxication tétrachlorée serait peut-être due à une mobilisation de cet acide aminé pour la synthèse d'enzymes à N.A.D. et à N.A.T. dont il est un précurseur. ROSSI et ZATTI (391) constatent que dans les premières étapes de l'intoxication tétrachlorée l'activation des acides aminés est significativement diminuée. MOURAY et coll. (312) décèlent, après altération du foie par une injection sous-cutanée de CCl_4 à des Lapins, une forte diminution de l'anabolisme des protéines plasmatiques et la disparition de l'haptoglobine, du sang de ces animaux et déduisent que le foie serait le lieu de la biosynthèse de cette glycoprotéine mais que son catabolisme se produirait ailleurs, car il est bien improbable que le système enzymatique qui en est responsable, ait résisté à l'action d'un toxique qui détruit les enzymes de synthèse. Pour CARTIER et LEROUX (86, 87), les lésions biochimiques pourraient n'être que le reflet d'une profonde altération de la synthèse protéique résultant elle-même d'un trouble de la biogenèse des acides nucléiques et étudient l'influence de cette intoxication tétrachlorée sur les nucléotides libres et leurs polyphosphates qui interviennent dans la biogenèse des acides nucléiques et dans la phase d'activation des acides aminés au cours de la synthèse des protéines. Selon HALEVY et coll. (198 bis), le tétrachlorure de carbone diminue la concentration par unité de poids en R.N.A. du foie mais augmente celle du D.N.A. et d'après RICHTER (375) il y a

modification de la répartition intracellulaire de l'acide ribonucléique du foie de Souris : augmentation dans la fraction surnageante et diminution dans les mêmes proportions dans la fraction microsomale. D'autre part, chez des Rats ayant reçu par voie buccale du CCl_4 , l'hyperbilirubinémie ne varie pas dans les huit premiers jours mais augmente seulement ensuite au moment où apparaissent les signes de dégénérescence [DUCHENE-MARULLAZ et coll. (141)].

Selon VIDO et NIEDERLAND (479), l'hyperbilirubinémie et les résultats donnés par le test au thymol constituent des indices biochimiques de la cirrhose expérimentale produite par le tétrachlorure de carbone.

Lipides : La dégénérescence graisseuse hépatique produite par l'administration de CCl_4 a été étudiée par un bon nombre d'auteurs : REES et SHOTLANDER (359), PAOLETTI (332), HEIMBERG et coll. (206, 208), KRETCHMER et BARNUM (251), SCHWED (219), VERNE (476, 477), PRIEST et coll. (347), OHE (330), SCHOTZ et RECKNAGEL (415, 416). HORNING et coll. (217), UEZUMI et coll. (466), étudiant la composition en acides gras des lipides hépatiques, constatent une augmentation de la portion non phospholipidique. Selon RUGGIERI et CIONI (402), la principale modification réside dans l'augmentation du taux d'acide oléique.

ROSSI et ZATTI (392) étudient les phosphatides plasmatiques et hépatiques, TANI (451) observe une diminution du taux des phospholipides dans les fractions microsomiques et mitochondriales des cellules hépatiques, CHIDA (90) une augmentation sérique des phospholipides et du cholestérol total. NEWHAUS et coll. (319) révèlent que l'intoxication au tétrachlorure de carbone décroît, chez le Rat, le taux de cholestérol sérique et accroît simultanément la concentration hépatique, ce qui est en accord avec sa synthèse hépatique. OHBA (229) constate que les taux de cholestérol sérique et hépatique sont plus ou moins élevés chez des Chiens empoisonnés avec des agents variés tels que le nitrate d'uranyle, le tétrachlorure de carbone, la phényl-hydrazine... Selon les travaux de SAKA et coll. (403), lors d'intoxication expérimentale au CCl_4 chronique, il se produit une hypercholestérolémie, suivie d'une hypocholestérolémie et une augmentation de la sérum-albumine. SEAKINS et ROBINSON (421) suggèrent que l'inhibition de la formation des lipoprotéines plasmatiques peut être une cause de la dégénérescence graisseuse du foie et de la diminution de la concentration lipidique du plasma chez les animaux intoxiqués au tétrachlorure de carbone.

Glucides : Lors de l'intoxication tétrachlorée, survient une perte des polysaccharides du foie en particulier du glycogène [ZIMMERMANN (514)]. Selon les travaux de GOLDBERGIENE et coll. (190), le glycogène disparaît complètement dans le foie 24 heures après l'administration de CCl_4 à des Rats ou des Cobayes. Quant à NEUMAN (317), il remarque que le taux de l'hexosamine sérique baisse chez des Cobayes intoxiqués au CCl_4 .

WELDOM et coll. (497) ont étudié le métabolisme du glucose, du galactose sur des coupes de foie mises à incuber *in vitro* avec du CCl_4 : la synthèse du glycogène est inhibée, les activités glycogène-synthétasique et phosphorylasique sont diminuées mais l'activité amylasique et le taux de glucose-6-phosphate est inchangé.

Quant au nitrate d'uranyle, la bibliographie porte quasi uniquement sur son action néphro-toxique, aussi n'est-elle pas reproduite ici, mais fait l'objet d'importants travaux dans le laboratoire du Professeur BASTIDE (32).

En ce qui concerne son action hépato-toxique, nous citerons seulement les travaux de TANAKA (450) qui étudie les fonctions rénales et hépatiques chez des Chiens intoxiqués avec du nitrate d'uranyle et observe les changements biochimiques dans le sang, l'urine et la bile; il note une augmentation de l'excrétion dans l'urine, d'albumine, d'urobilinogène, de bilirubine, de phosphatase alcaline le 3^e jour après l'injection, une détérioration du foie et une augmentation d'excrétion de l'azote non protéique et uréique du 3^e au 7^e jour et ensuite une diminution.

CHAPITRE III

MODE D'ACTION DU TETRACHLORURE DE CARBONE EN TANT QU'AGENT HEPATOTOXIQUE

METABOLISME DU TETRACHLORURE DE CARBONE

Le tétrachlorure de carbone atteint sa concentration maximum dans le foie une heure et demie après son administration par tubage gastrique, puis celle-ci décroît ensuite rapidement [RECKNAGEL et LITTERIA (354)]. En employant du CCl_4 marqué au C_{14} , on ne peut pas détecter quelque radioactivité dans les foies d'animaux 24 heures après l'intoxication [REES (356)]. FABRE et coll. (152) ont étudié la répartition, le métabolisme et l'élimination de ce solvant chloré au cours d'intoxications expérimentales : après avoir fait inhaler à des Lapins une atmosphère de 800 p.p.m. de CCl_4 4 heures par jour pendant 8 jours, ils constatent que les surrénales, la moelle osseuse et les centres nerveux sont les tissus qui fixent le plus de CCl_4 , ce qu'ils expliquent par la richesse en lipides de ces organes, que les localisations, au niveau du foie, de la vésicule biliaire et du rein sont importantes aussi et conditionnent l'apparition du syndrome d'hépatonéphrite qui caractérise l'intoxication subaiguë par CCl_4 . Selon ces auteurs, la fixation surrénalienne est très intéressante car elle interviendrait dans la production des modifications histologiques au niveau du foie. Le tétrachlorure de carbone cause aussi des lésions anatomo-pathologiques au niveau du rein, de la moelle osseuse, de la rate, des surrénales, des leucocytes. Il serait éliminé dans l'urine en très petite quantité sous forme d'un dérivé chloré volatil, entraînable par un courant d'air chaud, qui serait vraisemblablement du tétrachlorure de carbone ou un de ses métabolites immédiats. La plus grande partie serait par contre éliminée sous forme d'un dérivé chloré conjugué qui, après hydrolyse acide modérée, donnerait naissance à un produit volatil chloré de structure pas encore définie. Selon Mac COLLISTER et coll. (280) une petite partie de CCl_4 , administré par inhalation à des Singes, est transformée en CO_2 . Mais d'après BUTLER (72), de petites quantités de chloroforme seraient identifiables dans l'air expiré de Chiens ayant reçu du CCl_4 par inhalation; de plus le tétrachlorure de carbone serait réduit en chloroforme *in vitro* par des homogénats de foie de Souris, de cœur, de rein, de cerveau, et de muscle squelettique : cette réduction s'effectuerait encore mais à un degré moindre si le tissu, le foie par exemple, est chauffé au préalable dans le but d'inactiver quelque enzyme. PAUL et RUBINSTEIN (334) remarquent que 18 heures après l'administration intraduodénale de C^{14}Cl_4 à des Rats, 85 p. 100 ont été éliminés tels quels et 1 p. 100 en C^{14}O_2 et que, *in vitro*, la transformation de CCl_4 en CO_2 par des coupes de foie est stimulée par le citrate, l'acétate, le succinate; ils pensent que le chloroforme constitue une étape intermédiaire dans ces réactions qui seraient catalysées ensuite par quelques systèmes enzymatiques. Selon RUBINSTEIN et KANICS (399), la conversion du CCl_4 et de CHCl_3 marqués au C_{14} en C^{14}O_2 par des homogénats de foie est renforcée par l'addition de nucléotides pyridiniques, de glutathion et serait catalysée par des enzymes se trouvant dans les microsomes et le surnageant. Le fait que les besoins en coenzymes et que la distribution intracellulaire

des enzymes entrant en jeu soient les mêmes pour la transformation du CCl_4 et du CHCl_3 appuient l'hypothèse que le chloroforme serait un intermédiaire dans la déshalogénéation complète et l'oxydation du CCl_4 en CO_2 ; les voies intermédiaires seraient ensuite successivement le chlorure de méthylène, l'aldéhyde et l'acide formiques; deux enzymes entreraient en jeu : la formaldéhyde-déshydrogénase hépatique, enzyme à D.P.N., donnant naissance à du formiate et la catalase oxydant celui-ci en CO_2 .

SLATER (402) remarque que le trichlorofluorométhane (CCl_3F) qui a des propriétés physiques étroitement similaires à celles du tétrachlorure de carbone, n'a pas d'activité nécosante; il explique ceci par le fait que CCl_4 subit un métabolisme biochimique avant que puisse apparaître l'hépatotoxicité efficace, alors qu'une telle transformation est insignifiante dans le cas du CCl_3F . Cette constatation nous paraît extrêmement intéressante car elle vient s'ajouter au dossier extrêmement fourni et complexe dressé par les auteurs sur le fait de savoir pour un médicament ou une substance toxique si celle-ci agirait directement par elle-même ou par l'intermédiaire d'un de leurs métabolites. C'est ainsi que dans le cas du thalidomide, Paul LECHAT (267) vient de dresser un inventaire de la question et que évidemment la conclusion provisoire de son travail est la suivante : « Le produit responsable des propriétés tératogènes du thalidomide ne peut encore être désigné à coup sûr. Des charges pèsent sur le thalidomide lui-même, mais on ne peut exclure la possibilité que l'un de ses métabolites soit effectivement en cause. Les raisons de cette incertitude viennent du très grand nombre de métabolites théoriquement possibles du thalidomide, l'un d'eux, non encore identifié et présent à l'état de traces, pouvant être le vrai coupable. »

Nous sommes persuadés que les problèmes de ce genre se posent ainsi pour un très grand nombre de substances sans qu'il soit possible encore aujourd'hui de leur donner une réponse définitive.

MODE D'ACTION DU TETRACHLORURE DE CARBONE

Le mode d'action du tétrachlorure de carbone, notamment en tant qu'agent hépatotoxique, a fait l'objet de nombreux travaux, de diverses hypothèses et reste encore aujourd'hui sujet à discussions.

DODEL et DASTUGUE (135), en 1936, s'étaient déjà intéressés aux propriétés pharmacodynamiques du tétrachlorure de carbone : l'inhalation de vapeurs de CCl_4 produit une baisse importante de la tension artérielle, que ce soit chez le Chien ou le Lapin; par contre les réactions de l'animal à l'adrénaline et à l'acétylcholine ne paraissent pas modifiées d'une manière sensible par ce poison, à certaines doses tout au moins.

A. — Quelques auteurs envisagent que *le tétrachlorure de carbone cause des modifications vasculaires* qui provoquent un ralentissement important de la circulation au niveau du foie et qui seraient à l'origine de la nécrose cellulaire :

HIMSWORTH (209) suggère que CCl_4 agit en causant un gonflement des cellules parenchymateuses qui obstrue alors le sang dans les sinusoides du foie, produisant ainsi une nécrose ischémique. Par contre, STONER (441) pense que le tétrachlorure de carbone n'affecte pas en premier lieu la vascularisation du foie et les expériences de SENEVIRATNE (422) montrent que les réactions vasculaires du foie dues à ce toxique ne sont pas importantes. MOORE et BRODY (304, 305) remarquent que les changements caractéristiques dans les mitochondries du foie, obtenus par anoxie en ligaturant les artères mésentériques antérieures et les artères coeliaques et les veines portales pendant deux heures, ressemblent aux changements provoqués par le tétrachlorure de carbone : diminution de la teneur en protéines du foie et de l'activité D.P.N.-déshydrogénasique, activation de l'A.T.P.ase-magnésium. MASON et coll. (291) remarquent que si l'on perfuse un sang de Chien avec du sang non oxygéné, l'élévation du potassium, du magnésium et de la β -glucuronidase dans la veine sus-hépatique se produit très tôt, et que

celle des transaminases arrive plus tard; ils constatent aussi que le clampage des vaisseaux hépatiques afférents entraîne la libération de la transaminase glutamique oxalacétique et que la quantité d'enzyme libérée est une fonction exponentielle de la durée du clampage. STONER (441) s'aperçoit que chez les Rats témoins, la température du foie montre un cycle diurne et que la circulation sanguine hépatique reste relativement constante alors que chez les Rats traités au CCl₄ apparaissent une chute de la température du foie, une augmentation initiale dans la circulation sanguine puis une restriction à travers les lobules quand la nécrose est établie et il conclut que cette nécrose résulte d'une interférence directe avec le métabolisme des cellules hépatiques.

B. — Une hypothèse séduisante serait que le tétrachlorure de carbone agirait sur certaines zones encéphaliques provoquant une décharge d'amines pressives au niveau du système sympathique périphérique, créant secondairement une vasoconstriction hépatique et une anoxie :

CALVERT et BRODY, en 1959 (77), indiquent que le stress causé initialement par l'administration de tétrachlorure de carbone, entraîne une décharge sympatho-adrénalinique et que les catécholamines libérées modifient la circulation sanguine dans le foie créant une hypoxie et la mobilisation des lipides hépatiques. Ces mêmes auteurs, en 1960 (78), pensent que les changements caractéristiques suivant l'administration de CCl₄, sont le résultat d'une stimulation de la zone centrale sympathique périphérique amenant une restriction du courant sanguin dans le foie, l'anoxie, la nécrose autour de la veine centrale du lobule hépatique et la dégénérescence graisseuse. Ces chercheurs s'appuient sur la constatation qu'un prétraitement à la réserpine, la surrénalectomie et la section de la moelle épinière ont tous un effet plus ou moins étendu pour prévenir les perturbations marquées de la phosphorylation oxydative des mitochondries du foie, l'activation de l'A.T.P.ase et la dégénérescence graisseuse du foie; ils remarquent que la section de la moelle épinière est la plus active et empêche entièrement toutes ces modifications biochimiques. Par contre, HEIMBERG et coll. (206) mettent en évidence le blocage du transport des glycérides hépatiques après administration du tétrachlorure de carbone non seulement à l'animal, mais aussi sur le foie isolé et perfusé *in vitro*; cette action de CCl₄ ne dépendrait donc pas du relais médullo-surrénalien des catécholamines, ni de la décharge des fibres adrénérgiques du foie; d'autre part, des agents bloquant le système sympathique, phénoxybenzamine et ergotamine ainsi que le prétraitement de l'animal à la réserpine ne bloquent pas l'effet inhibiteur du CCl₄ sur le transport des triglycérides hépatiques.

BRODY et CALVERT, en 1960 (68), observent que l'administration d'une seule dose orale de CCl₄ provoque chez le Rat et le Lapin, au bout de 20 heures, une baisse dans le taux d'épinéphrine apparente et de norépinéphrine dans les zones médullaires des capsules surrénales et une augmentation parallèle du poids de ces glandes; ils rejettent l'hypothèse de l'inhibition de la synthèse de l'épinéphrine par le tétrachlorure de carbone, car ils ne notent aucune baisse de ces catécholamines dans les surrénales d'animaux dont les cordons spinaux ont été sectionnés avant l'administration du toxique. RUBINSTEIN, en 1962 (398), constate que l'administration intraduodénale chez le Rat de tétrachlorure de carbone est suivie dans les deux heures d'une hyperadrénalinémie avec élévation de l'activité phosphorylasique du foie, du glucose sanguin et sept heures plus tard d'une glycogénolyse importante et d'une augmentation de l'activité transaminasique sérique; il étudie l'effet des adrénolytiques injectés une heure après l'administration de CCl₄ et voit que l'ergotamine inhibe la baisse de glycogène mais n'a pas d'effet sur les transaminases, que la phénoxybenzamine ne s'oppose pas à la baisse du glycogène mais déprime l'activité transaminasique; il conclut que le relai-épinéphrine, sous l'influence de l'administration de CCl₄, se situe donc très tôt. BRODY, en 1963 (61), rappelle que le système nerveux sympathique joue un rôle important dans la toxicité du CCl₄ pour le foie, que l'atteinte hépatique est partiellement la conséquence d'une stimulation sympathique alors que la corticostérone a un rôle mineur dans la nécrose hépatique. LARSON et coll. (265)

découvrent que la section de la moelle épinière au niveau de C₇ protège les Rats des effets hépatotoxiques d'une dose orale de CCl₄, que cette protection est variable selon le niveau de la section et le mode d'administration : le degré de protection diminue quand le niveau va de C₇ à L₁. RECKNAGEL et ANTHONY (353) observent que la surrénalectomie réduit la nécrose hépatique due au CCl₄ sans diminuer la dégénérescence graisseuse. REES et coll. (361) montrent aussi que dans l'intoxication au CCl₄ la surrénalectomie antérieure diminue la nécrose hépatique, la perte des activités enzymatiques dans le sang et n'a que peu d'effet sur les modifications lipidiques. GOKHALE et coll. (188) mettent en avant l'intervention possible du système nerveux central sur l'hépatotoxicité du tétrachlorure de carbone et l'action médiatrice des catécholamines surrénaliennes. GULATI et coll. (197) utilisent comme indices d'hépatotoxicité la lésion histopathologique et la prolongation du temps de sommeil au pentobarbital; ils constatent qu'un prétraitement à la phénoxybenzamine, la guanéthidine et la pempidine procure une protection considérable contre le dommage hépatique tétrachloré et concluent qu'une décharge sympathique joue un rôle défini dans l'hépatotoxicité du CCl₄.

TRUHAUT et coll. (459) ont essayé d'approfondir cette hypothèse concernant le mode d'action du tétrachlorure de carbone, en recherchant les variations d'activités de deux enzymes tenues responsables du catabolisme de la presque totalité des catécholamines : la mono-amine-oxydase et la catéchol-O-méthyltransférase; ils constatent qu'aucune activité catéchol-O-méthyl-transférase n'est décelable dans le plasma avant ou après l'administration intrapéritonéale du toxique même après purification des fractions protéiques réputées riches en enzymes. Le dosage de l'activité mono-amine-oxydasique en présence de cynuramine est négatif alors qu'en présence d'adrénaline et de noradrénaline il y a formation des quinones correspondantes et il semble exister une relation entre la vitesse d'oxydation des amines et le degré de l'intoxication tétrachlorée. L'oxydation de l'adrénaline et de la noradrénaline serait catalysée par une substance de nature protéique dont le taux plasmatique serait augmenté lors de l'intoxication au CCl₄; il pourrait s'agir d'une oxydase telle que la céruloplasmine.

STERN et BRODY (440), après avoir administré une dose de CCl₄ par tubage gastrique à des Rats, trouvent une augmentation importante du taux des catécholamines plasmatiques et constatent de plus un accroissement parallèle dans l'urine. Selon ces mêmes auteurs, $98,3 \pm 5$ p. 100 de l'activité mono-amine-oxydasique et $92,0 \pm 5,1$ p. 100 de l'activité catéchol-O-méthyltransférase sont conservés dans le foie de ces animaux intoxiqués. L'adrénaline et la noradrénaline seraient donc excrétées sous forme libre et ni la mono-amine-oxydase, ni d'autres oxydases ne joueraient un rôle catabolique important au cours de cette intoxication.

CALVERT et BRODY (79), toujours pour élucider cette hypothèse, constatent que des Rats traités à la thyroxine sont plus sensibles aux effets toxiques du tétrachlorure de carbone, que leur équipement enzymatique est modifié et que ce phénomène est réduit par une thyroïdecomie préalable. Selon ces mêmes auteurs, la thyroxine augmente la libération des catécholamines et réduit l'activité des mono-amine-oxydases des mitochondries hépatiques; les variations enzymatiques du foie seraient la conséquence de l'hypoxie et la potentialisation ou l'atténuation des effets du tétrachlorure de carbone seraient produits en augmentant ou en diminuant le besoin d'oxygène du tissu.

C. — Selon de nombreux auteurs en effet, *l'action toxique porte principalement sur les membranes mitochondriales qui voient leur perméabilité considérablement augmentée* :

THIERS et REYNOLDS (453), REYNOLDS et coll. (372), étudiant les effets de l'intoxication tétrachlorée sur la distribution des métaux dans les fractions subcellulaires du foie de Rat, constatent des modifications dans les mitochondries quelques heures après l'administration de ce toxique : le calcium y augmente rapidement et atteint un maxi-

mum de plus de dix fois la valeur normale vers la 20^e heure; le potassium décroît au même moment atteignant le 1/4 de sa valeur normale vers la 40^e heure; le magnésium et le sodium montrent des fluctuations plus petites et la somme de ces quatre cations reste relativement constante. Ce mouvement s'étend aux autres fractions cellulaires et les réactions de phosphorylation oxydative (oxydation du glutamate et du β -hydroxybutyrate, du succinate, de l'octanoate) sont inhibées. Ces auteurs constatent que, *in vitro*, des mitochondries normales peuvent être protégées contre l'exposition au tétrachlorure de carbone par l'addition d'agents anioniques chélatants tels que le citrate, l'adénosinetriphosphate et l'éthylène diamine-tétracétate; ils font le rapprochement entre la modification électrolytique des mitochondries et la perte des fonctions oxydatives pour suggérer une ébauche du mode d'action de ce toxique. Quelques années plus tard, REYNOLDS et coll. (373) évaluent simultanément, *in vitro*, les changements dans les fonctions et la composition des mitochondries isolées de foie de Rats intoxiqués au CCl_4 et des suspensions de mitochondries normales auxquelles ils ajoutent du tétrachlorure de carbone et du calcium: la cessation de l'oxydation et de la phosphorylation oxydative est synchronisée avec l'accroissement frappant de la concentration en calcium et la chute du potassium. Pour reproduire dans les mitochondries normales la lésion observée chez les animaux intoxiqués, il faut à la fois du CCl_4 et des ions Ca^{++} . Les agents chélatants protègent les mitochondries normales de l'effet de ce toxique. Par contre l'addition de potassium, *in vitro*, ne restaure pas ou ne protège pas les fonctions oxydatives et l'introduction de cofacteurs tels que le D.P.N., le cytochrome-c, ne produit pas de changement significatif. *In vivo*, l'oxydation du glutamate et du β -hydroxybutyrate, du succinate et de l'octanoate décroît d'une manière très significative 12 à 16 heures après l'administration de tétrachlorure de carbone et devient nulle au bout de 40 heures, moment où la concentration en ions Ca^{++} atteint un maximum et celle du K^+ un minimum.

REES, SINHA et SPECTOR (361), RECKNAGEL et ANTHONY (353) isolent les mitochondries de foies d'animaux empoisonnés au tétrachlorure de carbone et suggèrent que l'attaque mitochondriale pourrait être un artefact dans ce type d'expérience: au cours de l'intoxication le calcium s'accumule en quantité très significative dans le foie, son taux est de 70 $\mu\text{g/g}$ de poids frais au temps 0 après l'administration de CCl_4 , de 360 μg à la 12^e heure et de 830 μg à la 22^e heure. Pendant l'isolement des mitochondries de tels foies, ces particules seraient exposées à ce calcium. Mais si l'on isole ces mitochondries de foies d'animaux intoxiqués dans un milieu contenant un agent chélatant du calcium tel que le versène ou éthylène-diamine-tétracétate, ces préparations ne montrent aucune des caractéristiques de l'attaque physique mitochondriale; la défaillance des réactions oxydatives, attribuée à la perte des nucléotides pyridiniques, est inhibée ou même renversée *in vitro* par l'addition d'agent chélatant de même que les variations d'activité A.T.P.asique des mitochondries isolées. POTTER et coll. (346) rapportent que l'on peut reproduire les mêmes variations de cette activité enzymatique si l'on met des mitochondries normales en contact avec du calcium.

Selon REES qui résume tous ces travaux (356, 357), il y a par conséquent un doute considérable sur les inter-relations de la dégénérescence graisseuse, des lésions mitochondriales, et de la nécrose hépatique dans l'intoxication tétrachlorée. Ce même auteur, pour essayer de dissocier ces phénomènes, administre de la prométhazine et remarque que deux injections à 0 et 6 heures après l'administration de CCl_4 , de 25 mg/kg de prométhazine diminuent fortement la nécrose hépatique et abolissent aussi la fuite des enzymes hépatiques vers le courant sanguin. Il conclut que, au cours de l'intoxication tétrachlorée, la dégénérescence graisseuse est un phénomène séparé des autres changements hépatiques et n'est pas secondaire à l'attaque mitochondriale. REES, poursuivant ses travaux, remarque que la nécrose hépatique qui ne se développe pas 24 heures après l'administration de CCl_4 chez des animaux ayant reçu le traitement à la prométhazine indiqué ci-dessus, apparaît 48 heures après et suggère que cet antihistaminique ne détoxique

pas le tétrachlorure de carbone mais inhibe un effet secondaire nécrosant sur la cellule hépatique.

SHARE et RECKNAGEL (423) font incuber des mitochondries de foie de Rat normal avec une solution sucrée de tétrachlorure de carbone et constatent que leur teneur en eau augmente, qu'elles perdent leur potassium et qu'elles sont incapables de le réaccumuler si cet ion est ensuite rajouté au milieu.

CHRISTIE et JUDAH (94) attribuent à l'action du tétrachlorure de carbone sur les cellules hépatiques le mécanisme suivant : le poison entre dans les cellules et attaque les mitochondries en premier lieu; cette attaque est physique et se traduit par deux faits importants : a) les mitochondries perdent leur pouvoir de retenir les petites quantités de cofacteurs qu'elles possèdent; b) une désorganisation de la chaîne des enzymes formant le cycle des acides carboxyliques, une dislocation de la cyclophorase de Green se produit; 10 à 15 heures après l'administration par tubage gastrique du CCl_4 , l'oxydation du malate, du citrate, de l'octanoate, du pyruvate et du glutamate est inhibée, celle du succinate est intacte; cette inhibition peut être levée, en ce qui concerne le malate, le glutamate, le citrate, par l'addition de nucléotides pyridiniques et pour le pyruvate par l'addition de coenzyme I et d'A.T.P. Les mitochondries intoxiquées perdent les nucléotides pyridiniques à une vitesse anormalement rapide et à différents moments pour différentes enzymes; ces changements sont progressifs et inversement le coenzyme I pénètre dans les mitochondries à une vitesse plus rapide que dans les mitochondries normales. Ces auteurs interprètent ces résultats par le fait qu'il y aurait une localisation précise des enzymes à l'intérieur des mitochondries : chaque système enzymatique aurait ses cofacteurs apposés étroitement à lui-même et le tétrachlorure de carbone révélerait une sélectivité considérable dans la vitesse d'attaque des systèmes variés. Une autre possibilité est que les apoenzymes aient des affinités différentes pour les coenzymes et comme la concentration du coenzyme en solution décroît graduellement, les apoenzymes possédant la plus petite affinité perdent leur activité d'abord, alors que la concentration en coenzyme est encore suffisante pour assurer l'activité des systèmes enzymatiques ayant de hautes affinités. Des expériences exécutées *in vitro* avec des mitochondries isolées à partir d'homogénats de foie préincubés avec du tétrachlorure de carbone donnent des résultats en étroite harmonie avec ceux obtenus après l'administration de ce même toxique à l'animal *in vivo* : l'oxydation de l'octanoate, du pyruvate et du citrate sont inhibées, seule celle de l' α -cétoglutarate est normale.

CHRISTIE et JUDAH (93) indiquent que les mitochondries présentent une barrière à l'accès du coenzyme I vers la malicodéshydrogénase; l'intoxication tétrachlorée détruit cette barrière permettant ainsi au coenzyme I de pénétrer rapidement dans la particule; l'accélération initiale de l'activité malicodéshydrogénasique justifie l'entrée du coenzyme I dans les mitochondries anormalement perméables. Tous ces résultats expérimentaux appuient l'hypothèse suivant laquelle le tétrachlorure de carbone pénètre dans les cellules du foie et atteint directement les mitochondries. JUDAH (230) pense aussi que la spécificité du lieu d'action vaut la peine d'être considérée, que le foie est spécialement intéressé alors que CCl_4 détruirait les mitochondries de n'importe quel tissu *in vitro*; la méthode de transport de CCl_4 par le courant sanguin est donc aussi d'une grande importance car elle déterminerait le lieu d'action du toxique. REES et coll. (361) étudient au cours de l'intoxication tétrachlorée la fuite de quelques enzymes hépatiques (isocitric, malico, glutamico-déshydrogénases) qui sont réparties dans des fractions spécifiques subcellulaires et dressent un tableau précis du point d'attaque de ce poison, sur les cellules du foie : d'après les travaux de LINDBERG et ERNSTER (cité par cet auteur), la glutamico-déshydrogénase est seulement localisée dans les mitochondries, la malicodéshydrogénase est répartie également dans le cytoplasme et les mitochondries, l'isocitricodéshydrogénase est répartie également dans le cytoplasme et le reste dans les mitochondries; 6 heures après l'adminis-

tration de CCl_4 , l'isocitricodéshydrogénase augmente considérablement dans le sang, la malicodéshydrogénase plus légèrement et la glutamicodéshydrogénase n'augmente qu'après 12 heures; toutes ces concentrations sanguines atteignent un maximum 24 heures après l'intoxication et reprennent leur valeur normale au bout de 72 heures. Les dosages effectués sur le cytoplasme et les mitochondries révèlent qu'au bout de 6 heures il y a une chute pour l'isocitricodéshydrogénase cytoplasmique mais pas de changement dans aucune fraction subcellulaire, concernant la malico et la glutamicodéshydrogénase; au bout de 12 heures une baisse arrive dans l'activité malicodéshydrogénasique du cytoplasme et des mitochondries et dans la glutamico-déshydrogénase des mitochondries; REES conclut donc, en remarquant que la perte maximum enzymatique mitochondriale apparaît au bout de 24 heures, que l'attaque mitochondriale suit l'administration de CCl_4 mais n'est qu'une manifestation tardive arrivant au moins 24 heures après l'intoxication.

Comme la graisse s'accumule dans le foie 3 heures après l'administration de CCl_4 [RECKNAGEL et ANTHONY (353)], il est invraisemblable que la dégénérescence grasseuse soit le résultat de l'attaque mitochondriale. La présence de l'isocitricodéshydrogénase, qui est localisée principalement dans le cytoplasme, au bout de 6 heures dans le sérum, suggère que l'attaque initiale de l'intoxication tétrachlorée est soit au niveau de la membrane cytoplasmique, soit au niveau de la membrane cellulaire.

JUDAH et REES (233) étudient les deux étapes d'oxydation du citrate en succinate en présence de malonate et voient que les acétones produits par l'oxydation du citrate diffusent loin du système enzymatique, ce qui retarde l'étape suivante, et suggèrent que l'attaque principale porte sur la structure mitochondriale. LEEVY et coll. (271) notent aussi l'augmentation de la perméabilité des mitochondries du foie et une perte des diphosphopyridine-nucléotides et du glycogène hépatique. ARTIZZU et DIANZANI (14) étudient les premiers changements apparaissant après intoxication au tétrachlorure de carbone par voie orale, dans les mitochondries et les lysosomes de foies de Rat : la concentration du toxique atteint une valeur déjà élevée 1 à 2 heures après, le rapport P/O décroît au bout de 2 heures, la graisse augmente au bout d'une heure. Les modifications mitochondriales ne dépendent pas de l'activation de la R.N.ase du moins dans le premier stade de l'intoxication, et chez les animaux surrénalectomisés, elles arrivent au même moment que chez les animaux témoins mais la dégénérescence est retardée; ces auteurs concluent que CCl_4 agit principalement sur les mitochondries, indépendamment de l'influence des surrénales qui joueraient seulement un rôle dans les toutes premières phases de l'accumulation grasseuse. Pour DIANZANI (130) la dégénérescence du foie survient comme un échec dans l'oxydation des graisses secondairement à l'attaque mitochondriale; CCl_4 provoque le passage d'une partie des nucléotides pyridiniques des mitochondries dans le surnageant et une diminution de l'oxydation des substrats exigeant le D.P.N. (glutamate, malate, pyruvate, cétoglutarate). *In vitro*, l'action de CCl_4 sur les mitochondries a été étudiée par ces mêmes auteurs (13, 15) et CAMERON (80) rapporte d'autre part les travaux de CHRISTIE et JUDAH qui utilisant des coupes de foie traitées par des quantités minimales de CCl_4 , mettent en évidence la participation des mitochondries au cours de l'atteinte cellulaire par le toxique : au bout de quelques heures de grosses vacuoles claires groupées autour du noyau apparaissent, fusionnent, occupent presque toute la cellule et constituent la dégénérescence hydro-pique; ces vacuoles sont des mitochondries gonflées, remplies d'eau et de particules de graisse finement dispersées. D'après ces auteurs le tétrachlorure de carbone interviendrait lors de la production d'énergie par l'appareil mitochondrial, processus vital nécessaire à la respiration cellulaire. Il induirait « un goulot d'étranglement » à différentes étapes du cycle des acides tricarboxyliques de Krebs ou dans les réactions qui le précèdent. La défaillance des mécanismes énergétiques des mitochondries conduit à l'accumulation des graisses imparfaitement métabolisées, à la rétention d'eau et à des bouleversements de l'équilibre ionique, por-

tant notamment sur le sodium et le potassium; peut-être parce que le mécanisme de pompage cellulaire ne fonctionne plus en raison même de la défaillance de la production énergétique.

D. — Mais la perméabilité mitochondriale ne serait pas seule en cause et le tétrachlorure de carbone pourrait agir en augmentant la perméabilité cellulaire :

Ce toxique modifierait la perméabilité cellulaire avec ou sans effet concomitant sur le réticulum endoplasmique. Cette action résulterait d'un effet direct sur la membrane plasmique avec peut-être une interférence avec une réaction enzymatique fournissant de l'énergie [ROUILLER (393)]. Plusieurs faits se présentent donc à l'appui que le tétrachlorure de carbone agirait aussi en modifiant la perméabilité cellulaire, à savoir : les modifications des concentrations intracellulaires électrolytiques [augmentation des ions Na^+ et Ca^{++} , diminution des ions K^+ et Mg^{++} — GALLAGHER (174), CALVERT et BRODY (76), REES et coll. (361)], la perte des nucléotides pyridiniques cytoplasmiques puis mitochondriaux, la perte d'enzymes cytoplasmiques telles que l'isocitricodéshydrogénase suivie de celle des enzymes mitochondriales telles que la glutamicodéshydrogénase [REES et SINHA (360)], l'abolition de ces effets par la surrénalectomie ou le traitement à la prométhazine [GALLAGHER et REES (175)].

Le toxique agirait soit sur la perméabilité de la membrane cellulaire, soit sur celle de la membrane du réticulum endoplasmique, soit probablement sur la perméabilité des deux. Selon REES (356), les événements les plus précoces seraient la perte du potassium intracellulaire et des protéines solubles y compris les enzymes et l'accumulation intracellulaire d'eau, de chlorure de sodium et d'ions Ca^{++} dues à une variation de la perméabilité. Le fait que la prométhazine inhibe ces changements *in vivo* et *in vitro* est en accord avec son action générale sur la perméabilité. Les modifications de perméabilité seraient dues soit à un effet sur la membrane cellulaire, soit à une action sur la matrice supportant les ions à l'intérieur de la cellule et dont l'existence semble bien confirmée ainsi que le rôle important dans les mouvements de l'eau et des électrolytes.

Cependant ROUILLER (393) rapporte l'hypothèse de LEHNINGER suivant laquelle le transport des électrolytes est fermement lié aux réactions enzymatiques à rendement d'énergie et les altérations de perméabilité seraient en fait secondaires à une interférence par le toxique avec les enzymes du réticulum endoplasmique. D'autre part, selon WOOD (502), la seule barrière entre le cytoplasme et le sang est la membrane plasmique parce que l'endothélium est discontinu et que chez les animaux tels que le Rat, le Lapin, la Souris, il n'y a pas de couche sous-épithéliale dans l'espace de DISSE.

E. — Autres hypothèses :

— Mais selon la publication de CAMERON (81), si l'atteinte cellulaire des mitochondries est certaine, le siège initial des lésions par intoxication par le tétrachlorure de carbone est peut-être ailleurs : la microscopie électronique révèle qu'un temps de latence d'une douzaine d'heures est nécessaire avant qu'apparaissent les lésions mitochondriales et que celles-ci sont précédées de l'apparition de vacuoles dans le réticulum endoplasmique des cellules intoxiquées; les perturbations lipidiques surviennent d'autre part avant toute lésion apparente des mitochondries : comme la synthèse des phospholipides et celle des graisses neutres ont un tronc commun représenté par la formation d'acides phosphatidiques, il suffirait que le tétrachlorure de carbone intervienne à ce niveau pour que la synthèse lipidique soit déséquilibrée; or selon JUDAH et REES cités par CAMERON (81) les cellules hépatiques lésées par CCl_4 fabriquent un excès d'acides phosphatidiques, ce qui provoque une carence relative en choline et de ce fait la transformation des acides phosphatidiques en graisses neutres. Le siège de cette biosynthèse lipidique serait encore mal connu mais il serait possible que le réticulum endoplasmique soit le premier à rentrer en jeu. D'après les travaux de

REES et SHOTLANDER (358) les acides gras non estérifiés apportés dans le foie par le courant sanguin sont resynthétisés en triglycérides, complexés avec des protéines pour former des lipoprotéines et sécrétés dans le courant sanguin par le réticulum endoplasmique; au cours de l'intoxication tétrachlorée, l'inhibition de la synthèse protéique et le dommage porté à la sécrétion des lipoprotéines prennent place simultanément; il y aurait donc une attaque physique de CCl_4 sur le réticulum endoplasmique. RECKNAGEL et LOMBARDI (355) suggèrent que CCl_4 endommage le réticulum endoplasmique à un stade précoce et montrent que dans les 2-3 heures suivant l'empoisonnement, l'activité des deux enzymes associées à cette structure : glucose-6-phosphatase et D.P.N. cytochrome-c-réductase est réduite de 50 à 30 p. 100 environ. NEUBERG et MAIBAUER (316) remarquent que chez des Rats intoxiqués au tétrachlorure de carbone, l'enzyme microsomique catalysant la détoxication de l'amidopyrine est fortement déprimée alors qu'au même moment la phosphorylation oxydative est encore intacte.

— Selon les travaux de De DUVE et coll. (142) ce seraient les *lysosomes* qui seraient les organites intracellulaires les plus sensibles à l'anoxie et aux toxiques tels que le tétrachlorure de carbone et qui joueraient le rôle fondamental dans la nécrose cellulaire : après ligature des vaisseaux afférents d'un lobe hépatique du Rat ou après administration du tétrachlorure de carbone, les lysosomes seraient détruits presque immédiatement; leurs enzymes seraient activées par l'abaissement du pH cellulaire, notamment les cathepsines dont l'action protéolytique entraînerait la destruction cellulaire.

— Mais quelques enzymes telles que la phosphatase alcaline, la xanthine-oxydase augmentent et dans le foie et dans le sang : cette variation de la xanthine-oxydase serait due à la *labilité au tétrachlorure de carbone de certaines cénapses lipoprotéiques* au niveau desquelles l'enzyme serait engagée et masquée dans le cytoplasme des cellules hépatiques; l'enzyme hépatique passerait ensuite dans la circulation [POŁONOWSKI (Précis de Biochimie)].

— RICHTER (376) étudie après l'administration de CCl_4 à des Rats certaines réactions *in vitro* sur des coupes de foie : ces foies montrent une capacité plus faible à méthyler la nicotinamide et l'acide guanidoacétique, à former l'urée à partir du sulfate d'ammonium en présence d'ornithine, à hydroxyler la phénylalanine et à conjuguer la morphine; de plus la consommation d'oxygène, l'activité succinoxydasique et choline-oxydasique et les phosphates organiques des foies d'animaux traités sont plus élevés que ceux des témoins; cet auteur en conclut qu'il est possible d'assurer que les enzymes méthylant et conjuguant des foies intoxiqués ne peuvent pas utiliser l'A.T.P. disponible, que CCl_4 agit soit directement sur ces enzymes soit *en empêchant le transfert de l'énergie de l'A.T.P. aux systèmes réactionnels*.

BOIVIN et coll. (54) dressent le tableau du syndrome de la cytolyse hépatique obtenue par anoxie ou par l'action d'un toxique et proposent que, privé de l'apport énergétique nécessaire au maintien de la perméabilité relative de la membrane cellulaire, l'équilibre entre le contenu de la cellule et les liquides extra-cellulaires n'est plus régi que par les lois de la physique : les ions K^+ et Mg^{++} quittent la cellule où pénètrent les ions Ca^{++} et Na^+ . L'augmentation de la force ionique à l'intérieur de la cellule a pour conséquence un appel d'eau dont résulte le gonflement cellulaire. L'accumulation des anions provoquée par l'arrêt du cycle de Krebs d'une part, par celui de la phosphorylation oxydative qui libère les phosphates inorganiques de l'autre, entraîne une chute du pH et lorsque celui-ci est assez bas, les enzymes protéolytiques sont activées, ce qui provoque la lyse cellulaire. Enfin, nous terminons cette étude bibliographique en mentionnant simplement le schéma de HAUSS et LEPPELMAN (202) selon lequel l'attaque aiguë d'une variété de tissus est associée avec la libération d'enzymes intracellulaires dans le courant sanguin.

DEUXIÈME PARTIE

RECHERCHES EXPÉRIMENTALES

1. — INTOXICATION AU TETRACHLORURE DE CARBONE

CHAPITRE PREMIER

GENERALITES

Tout au cours de notre expérimentation, nous avons utilisé des Souris blanches, adultes, mâles de préférence, pesant sensiblement 25 grammes.

Mode d'intoxication :

Nous avons administré à ces animaux, en une seule injection intrapéritonéale, 0,01 ml de CCl_4 par 20 g de poids corporel. Pour raisons de commodité et de solubilité, nous avons auparavant dilué le tétrachlorure de carbone dans de l'huile d'olive et nous étions ainsi ramenés à injecter 0,2 ml de cette solution au 1/20 par 20 g de poids corporel. L'intoxication était mise en jeu en début de semaine, les dosages tout au cours de la semaine; pour l'étude des variations de chaque activité enzymatique, nous avons utilisé trois lots d'une quinzaine de Souris et étalé nos dosages sur trois semaines.

Obtention des préparations enzymatiques :

Les Souris étaient sacrifiées 24, 48, 72, 96 heures après l'injection tétrachlorée; des Souris non intoxiquées étaient utilisées comme témoins. Les foies étaient aussitôt prélevés, pesés, dilués au dixième avec de l'eau distillée et homogénéisés à l'« Ultra-Turrax ». Cet homogénat était, pour le dosage enzymatique, soit utilisé comme tel, soit centrifugé pendant 10 minutes à 4.500 tours. Pour chaque dosage nous spécifierons si nous avons opéré sur le surnageant ou l'homogénat total. L'homogénat ou le surnageant était enfin dilué au 1/50, au 1/100... jusqu'au 1/1000 selon l'enzyme à doser.

Expression des résultats :

Les résultats sont exprimés en pourcentage de substrat métabolisé. Sur les différents tableaux figurent :

- le taux de dilution de l'homogénat;
- les temps d'incubation;
- le nombre d'animaux utilisés;
- le temps écoulé après l'intoxication;
- les moyennes arithmétiques des pourcentages M;
- les écarts standards σ calculés d'après la formule suivante :

$$\sigma = \sqrt{\frac{\varepsilon d^2}{n - 1}}$$

ε = somme;

d = différence entre le résultat de chaque essai et la moyenne arithmétique M des résultats pour n expériences;

n = nombre d'expériences.

Etude histologique :

Cette étude a été réalisée grâce à la précieuse collaboration de Monsieur le Professeur TURCHINI et nous a permis de vérifier les lésions du foie au cours de cette hépatite expérimentale aiguë.

Employé par administration intrapéritonéale, à la dose déjà citée de 0,01 ml par 20 g de poids corporel, le tétrachlorure de carbone cause des lésions hépatiques nettes :

— 24 heures après, on note une dilatation des sinusoides, congestion, infiltration cellulaire (lymphocytes, polynucléaires) dans les espaces périportaux; il n'y a pas apparemment de surcharges en enclaves lipidiques ou glycogéniques et pas de stéatose; on remarque aussi la présence d'hépatocytes moyennement basophiles d'aspect sensiblement normal, et de grandes cellules oxyphiles à cytoplasme « spongieux » (probablement par raréfaction des R.N.P., peut-être état cellulaire réactif à intoxication liminaire).

— 48 heures après l'injection, le foie est toujours congestionné avec infiltration; des cellules à cytoplasmes laqués, fortement éosinophiles, apparaissent ainsi que quelques altérations nucléaires de type cariolyse, carryohexie, pycnose hyperchromatique, et des figures de mitoses.

— 72 heures après, la congestion et une infiltration importante périvasculaire persistent; de nombreuses mitoses se produisent et le parenchyme présente un aspect bigarré du fait de la présence de cellules parenchymateuses normales, de cellules à cytoplasme clair et de taille réduite (vraisemblablement cellules de type jeune, de régénération), de cellules d'infiltration et de quelques cellules d'aspect dégénératif.

— 96 heures après, s'effectue un retour progressif à la normale; les mitoses s'accroissent et les cellules altérées deviennent moins nombreuses, voire absentes.

CHAPITRE II

DOSAGE DE L'AZOTE TOTAL

Pour doser les protéines du foie tout au cours de l'intoxication au tétrachlorure de carbone, nous n'avons pu employer la méthode de GORNALL dosant les protéines biurétiques car les lipides accumulés dans le foie produisaient un trouble abondant avec le réactif cupro-trique et faussaient l'évaluation photolorimétrique.

Aussi, avons-nous employé la micro-méthode de KJELDAHL.

Principe :

On minéralise l'azote selon la technique de KJELDAHL en détruisant le tissu par de l'acide sulfurique concentré à chaud, en présence d'un catalyseur de minéralisation. L'azote est transformé en ammoniac qui est fixé immédiatement par SO_4H_2 puis est déplacé par de la NaOH concentrée (50 %). On dose par acidimétrie en présence de l'indicateur Duplex.

Réactifs : — Indicateur Duplex :

Duplex concentré	5 ml.
Acide borique	20 g.
Eau distillée q.s.p.	500 ml.

Faire dissoudre l'acide borique dans 450 ml d'eau chaude. Après refroidissement, ajouter 5 ml de Duplex concentré et compléter à 500 ml.

— SO_4H_2 concentré.

— Catalyseur de minéralisation : SO_4K_2 + oxyde de sélénium.

— Phénolphthaléine en solution alcoolique à 2 p. 100.

— Lessive de soude.

— SO_4H_2 N/10.

Mode opératoire :

A) *Minéralisation :* Introduire dans un matras :

— le foie que l'on a pris soin de peser frais et de dessécher ensuite quelques heures à l'étuve, ce qui facilite la minéralisation;

— le catalyseur de minéralisation, soit SO_4K_2 : 2 g + oxyde de sélénium : 0,02 g + SO_4H_2 concentré 5 ml.

Chauffer doucement au début, puis à l'ébullition que l'on maintient jusqu'à décoloration totale du liquide; laisser refroidir.

B) *Entraînement à la vapeur d'eau et dosage* : Introduire la solution minéralisée dans l'appareil de Parnass. Rincer le matras avec deux fois 10 ml d'eau distillée. Ajouter III gouttes de solution de phtaléine, puis 20 ml de soude à 50 p. 100 (jusqu'à virage du milieu). Effectuer l'entraînement à la vapeur d'eau et recueillir le produit d'entraînement dans 5 ml d'indicateur Duplex qui est rouge au départ et vire au vert franc en milieu ammoniacal. Titrer au fur et à mesure de la distillation par de l'acide sulfurique N/10 jusqu'à coloration gris lilas.

Expression des résultats : 1 ml SO_4H_2 N/10 correspond à 0,0014 g d'azote.

Soit n le nombre de ml de SO_4H_2 N/10.

Soit p le poids du foie frais.

La teneur en g d'azote total p. 100 g de foie frais est :

$$N = \frac{n \times 0,1401}{p}$$

Pour obtenir la quantité de protéines pour 100 g de foie frais, il suffit de multiplier ce chiffre N obtenu par 6,25.

Résultats : Le foie de Souris normale titre 3,36 g d'azote total (soit 21,0 g de protéines totales) pour 100 g d'organe frais, 24 heures après l'administration du tétrachlorure de carbone, ce taux protéique reste sensiblement le même alors que 48 heures après il marque une baisse nette et n'est plus que de 15,6. Ensuite, il augmente progressivement et réatteint presque sa valeur normale à la 96^e heure.

Nos résultats sont reportés dans le tableau n° 1 et illustrés par la courbe page 70. Les chiffres M représentent la moyenne des dosages effectués sur huit animaux.

CHAPITRE III

DOSAGE DES ACIDES DESOXYRIBONUCLEIQUE ET RIBONUCLEIQUE

Le dosage proprement dit des acides désoxyribonucléique (A.D.N.) et ribonucléique (A.R.N.) dans les tissus doit être précédé de leur extraction.

— *Extraction* : La méthode utilisée est celle de SCHNEIDER (412) modifiée par KULKA (252) : Diluer le foie au 1/25 avec de l'acide trichloracétique à 5 p. 100 et homogénéiser à l'« Ultra-Turrax ». Laisser en contact ensuite pendant 1 heure à 0° C puis centrifuger à 2.000 tours/minute pendant 5 minutes; décanter le surnageant; remettre le précipité en suspension pour le laver dans le même volume d'acide trichloracétique à 5 p. 100 que celui utilisé pour préparer l'homogénat. Centrifuger, décanter le surnageant; traiter le précipité avec un volume d'acide trichloracétique à 5 p. 100 rigoureusement égal à celui employé précédemment; porter le tout à 90° C pendant 15 minutes; centrifuger pendant 5 minutes à 2.000 tours/minute.

Doser l'A.D.N. sur le surnageant au 1/25 et au 1/50 et l'A.R.N. sur le surnageant au 1/100 et au 1/200.

— *Dosage de l'A.D.N. par la réaction à la diphénylamine* : La méthode employée est celle de DISCHE (132).

Principe : La diphénylamine donne une coloration bleue avec les 2-désoxypentoses.

Réactifs : — Réactif de DISCHE à la diphénylamine : dissoudre 1 g de diphénylamine dans 100 ml d'acide acétique glacial très pur et ajouter 2,75 ml de SO_3H_2 concentré pur. (Se conserve peu, refaire tous les deux jours.)

— Solution étalon à 0,10 g pour 100 dans l'eau distillée d'A.D.N. polymérisé NBCo. (A conserver à + 4° C.)

Mode opératoire : Mettre dans un tube à essai :

— 1 volume de solution d'A.D.N. à doser (2 ml);

— 2 volumes de réactif à la diphénylamine (4 ml).

Chauffer ce mélange à 100° C pendant au moins 10 minutes. Laisser refroidir et mesurer la coloration bleue obtenue au photolorimètre à 595 m μ .

Etalonnage : Diluer au demi la solution d'A.D.N. par un égal volume d'acide trichloracétique à 10 p. 100. Porter alors le mélange pendant 15 minutes au B.M. à 90° C. Répartir ensuite cette solution obtenue

dans 6 tubes à essais à raison de 0, 0,4, 0,8, 1,2, 1,6, 2 ml. Ajouter de l'eau distillée q.s.p. 2 ml; traiter alors comme la solution à doser. Cette gamme correspond à 0, 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5 mg d'A.D.N. dans 1 ml de solution à doser.

— *Dosage de l'A.R.N. par la réaction à l'orcinol* : La méthode employée est celle de MEJBAUM (296).

Principe : Ce dosage est basé sur la coloration verte que donne le ribose (pentose) de l'acide ribonucléique avec l'orcinol en présence de FeCl_3 (réaction de BIAL).

Réactifs : — Réactif de MEJBAUM à l'orcinol, modifié comme suit :

— 1,7 ml solution de FeCl_3 (obtenue en mélangeant : 1 ml sol. FeCl_3 Prolabo R.P. à 28 % et 9 ml d'HCl concentré).

— 0,100 g d'orcinol très pur.

— HCl concentré q.s.p. 100 ml.

Ce réactif est à refaire tous les jours.

— Solution étalon d'A.R.N. (NBCo Ribose nucleic acid reagent grade NBCo P.M. 1303,8; N = 16,3 P = 9,5; N/P = 1,7) à 0,050 g pour 100 (mettre 5 ml NaOH N/10 pour dissoudre).

Mode opératoire : Mettre dans un tube à essai :

— 1 volume de solution d'A.R.N. à doser (2,5 ml);

— 1 volume de réactif (2,5 ml).

Porter ce mélange au B.M. bouillant pendant 20 minutes; refroidir et apprécier la coloration verte obtenue au photocolorimètre à 670 m μ .

Etalonnage : Diluer au demi la solution étalon d'A.R.N. par un égal volume d'acide trichloracétique à 10 p. 100; porter alors 15 minutes au B.M. à 90° C. Répartir la solution obtenue dans 6 tubes à essais à raison de : 0, 0,5, 1, 1,5, 2, 2,5 ml. Ajouter de l'eau distillée q.s.p. 2,5 ml et traiter comme l'A.R.N. à doser. Cette gamme correspond à 0, 0,05, 0,10, 0,15, 0,20, 0,25 mg d'A.R.N. dans 1 ml de sol. à doser.

Calculs : Dans un surnageant contenant de l'A.D.N. et de l'A.R.N., il faut soustraire de la coloration verte totale donnée par l'orcinol la densité optique qui revient à l'A.D.N. Pour cela, effectuer la réaction à l'orcinol sur une gamme d'A.D.N. En se rapportant à cette courbe, chercher quelle densité optique donne à l'orcinol l'A.D.N. trouvé pour cette dilution, et la déduire de la densité totale trouvée pour cette dilution par la réaction à l'orcinol.

Résultats : Chez les Souris normales, nous avons décelé 0,478 g d'acide désoxyribonucléique et 1,360 g d'acide ribonucléique pour 100 g de foie frais.

Lors de l'intoxication tétrachlorée (voir tableau n° 1), le taux de

TABLEAU N° 1

Protéines totales (Kjeldahl), A.D.N. et A.R.N.
(en g/100 g foie frais)
après intoxication au tétrachlorure de carbone

En g pour 100 g de foie frais	Azote total	Protéines totales		A.D.N.		A.R.N.	
Temps écoulé en heures après l'intoxication	M	M	σ	M	σ	M	σ
0	3,16	19,7	2,12	0,478	0,090	1,360	0,191
24	3,17	19,8	2,38	0,448	0,035	1,030	0,217
48	2,63	16,4	1,03	0,525	0,050	1,110	0,073
72	2,98	18,6	1,47	0,554	0,068	1,550	0,056
96	2,89	18,1	1,92	0,592	0,116	1,530	0,119

l'A.D.N. hépatique subit quelques fluctuations, à savoir une légère baisse à la 24^e heure puis une augmentation progressive atteignant + 16 p. 100 à la 96^e heure; celui de l'A.R.N. présente à la 24^e heure une baisse très nette de — 24 p. 100, suivie ensuite d'une augmentation progressive et atteint ainsi à la 96^e heure une valeur de + 12 p. 100 par rapport à la normale (voir courbes page 70).

Les chiffres M représentent la moyenne des dosages effectués sur quatre animaux.

CHAPITRE IV

ACTIVITES CHOLINESTERASIQUES

Généralités : Il existe deux variétés d'enzyme capable d'assurer *in vitro* l'hydrolyse de l'acétylcholine indispensable à la conduction de l'influx dans la cellule nerveuse :

— la cholinestérase vraie désignée sous le nom d'acétylcholinestérase, abondante dans le tissu nerveux et les érythrocytes et qui détruit l'acétylcholine *in vivo* après que celle-ci ait joué son rôle physiologique;

— la pseudocholinestérase douée de larges possibilités hydrolytiques, dont en particulier celle de cliver l'acétylcholine, présente dans le sérum et qui serait synthétisée comme la sérum-albumine au niveau du foie.

Dosage : La méthode utilisée est celle de VINCENT et coll. (489).

Principe : La cholinestérase hydrolyse une solution d'acétylcholine; l'acétylcholine restant en fin d'incubation est dosée selon la méthode de HESTRIN, coloration rouge avec le mélange hydroxylamine-FeCl₃. L'activité cholinestérasique totale est dosée en l'absence de chlorhydrate de diéthazine; l'activité cholinestérasique spécifique est appréciée en présence de chlorhydrate de diéthazine qui inhibe la pseudocholinestérase de type plasmatique.

Réactifs : — Diéthazine, HCl; solution à 0,4 p. 1.000.

— Tampon barbital pH 7,4 :

A) Barbital sodique 0,05 M soit 10,31 g/l;

B) HCl 0,05 N.

57,1 ml de solution A, q.s.p. 100 ml de solution B. Vérifier le pH.

— Solution extemporanée de chlorhydrate d'acétylcholine à 1 p. 1.000, dans le tampon à pH 7,4. (Nous avons utilisé des ampoules d'Acécoline*.)

— Acide trichloracétique à 10 p. 100.

— Solution extemporanée d'hydroxylamine :

1 volume de solution de chlorhydrate d'hydroxylamine à 13,9 p. 100.

2 volumes de NaOH 3,5 N (140 g/l).

— HCl 4 N : HCl fumant 40 ml; eau distillée q.s.p. 100 ml.

— FeCl₃ 0,37 N (solution FeCl₃ R.P. à 27 p. 100 : 23 ml + HCl 0,1 N q.s. pour 100 ml).

Mode opératoire : Dans des tubes à centrifuger, pipeter :

0,2 ml de solution enzymatique;

0,8 ml de tampon barbital;

1,0 ml de solution d'acétylcholine à 1 p. 1.000.

Faire incuber 15 et 30 minutes à 38° C. Ajouter ensuite 1 ml d'acide trichloracétique à 10 p. 100. Centrifuger.

Prélever 1,5 ml du surnageant dans des tubes à essais, ajouter :

0,4 ml de solution extemporanée d'hydroxylamine;

Deux minutes après : 0,3 ml HCl 4 N;
0,2 ml FeCl₃ dans HCl;
2 ml d'eau distillée.

Lire à 520 mμ. Le zéro de l'appareil est réglé avec un tube contenant tous les réactifs sauf l'acétylcholine et l'enzyme. Un tube contenant 1 ml d'acétylcholine et les réactifs de coloration sert à régler l'appareil au maximum de coloration.

Étalonnage : L'étalonnage est obtenu avec 0, 0,1... 0,9, 1,0 ml de solution d'acétylcholine à 1 pour 1.000 (correspondant à 100, 90... 10, 0 p. 100 d'hydrolyse). Ajouter 0,2 ml d'eau distillée, du tampon barbital q.s.p. 2 ml, et de l'acide trichloracétique 1 ml. Prélever 1,5 ml de ce mélange et effectuer la coloration.

Remarque : Nous avons effectué au départ des essais en ajoutant dans les tubes prêts à incuber 0,1 ml de solution de chlorhydrate de diéthiazine; nous avons remarqué que la cholinestérase hépatique était complètement inhibée par ce produit; d'où nous avons déduit que la cholinestérase vraie est complètement nulle dans le foie. Nous avons alors continué les séries de dosage d'après le mode opératoire décrit précédemment.

Résultats : Le foie de Souris normale ne présente pas d'activité cholinestérasique vraie, mais seulement une activité pseudo-cholinestérasique de type plasmatique, non spécifique.

Cette activité enzymatique semble être très affectée par l'action du tétrachlorure de carbone : en effet 42,3 p. 100 de substrat sont métabolisés par un homogénat de foie de Souris normale au 1/20 en 15 minutes alors que 24 heures après l'intoxication ce ne sont plus que 27,1 p. 100 d'hydrolysés dans les mêmes conditions, soit une chute d'activité de 30 p. 100 environ par rapport à la valeur normale.

Ensuite au bout de 48 heures, cette activité remonte faiblement, fait retour à la normale à la 72^e heure et se maintient à cette valeur à la 96^e heure.

Ces résultats sont rapportés dans le tableau n° 2 et la courbe page 70 traduit nettement ces variations.

TABLEAU N° 2
ACTIVITE CHOLINESTERASIQUE

Pourcentage d'acétylcholine métabolisée avec les homogénats de foie de Souris après intoxication au tétrachlorure de carbone

Dilutions de l'homogénat		1/20				1/40			
Temps d'incubation (min.)		15		30		15		30	
Nom- bre d'ani- maux	Temps écoulé en heures après l'in- toxication	M	σ	M	σ	M	σ	M	σ
20	0	42,3	9,0	64,9	7,7	28,8	6,3	47,7	6,3
8	24	27,1	5,8	48,4	10,6	19,0	5,9	31,9	7,5
8	48	30,8	6,8	51,2	7,3	20,1	4,2	31,1	5,3
8	72	41,6	13,4	63,2	12,5	28,6	6,4	47,3	12,4
8	96	42,4	11,8	65,8	8,5	28,0	5,7	44,7	8,6

CHAPITRE V

ACTIVITES PHOSPHATASIQUES ACIDE ET ALCALINE

Généralités : Parmi les phosphomonoestérases, on distingue :

— La phosphomonoestérase I ou *phosphatase alcaline*, de pH optimum 8,0-9,0, la plus répandue dans tous les tissus animaux, principalement dans les os en voie de croissance, la muqueuse intestinale, le cortex rénal mais aussi dans le foie, le placenta, les leucocytes.

— La phosphomonoestérase II ou phosphatase acide de pH optimum 5,0-5,6, présente dans le foie, la rate, le rein, les muscles, le pancréas, la prostate.

Dosage : La technique utilisée est celle de BESSEY, LOWRY et BROCK (48).

Principe : Le paranitrophénylphosphate, incolore, libre à 37° C par hydrolyse du groupement phosphate, du paranitrophénol, coloré en jaune en milieu alcalin $\text{Paranitrophénylphosphate} + \text{H}_2\text{O} \longrightarrow \text{Paranitrophénol} + \text{PO}_4\text{H}_3$. Selon le pH du milieu, nous apprécions l'activité phosphatasique acide ou alcaline du milieu.

Réactifs : — Solution de paranitrophénylphosphate de sodium M/1000 (préparée extemporanément).

— Solution de paranitrophénol M/2000.

— Tampon glycolle-soude de pH 10,5 :

Sol. A : Glycolle	7,505 g.
CiNa	5,85 g.
Alcool 80°	20 ml.
Eau distillée q.s.p.	1 000 ml.

Sol. B : NaOH 0,1 N

Mélanger extemporanément 45 ml de solution B et 55 ml de A.

— Tampon citrique de pH 4,8 :

Acide citrique	21,008 g.
NaOH N	200 ml.
Eau distillée q.s.p.	1 000 ml.

— NaOH 0,02 N.

— NaOH 0,2 N.

Mode opératoire :

A) *Phosphatase alcaline* : Faire incuber dans des tubes à essais à 37° C : 1 ml du mélange à parties égales de tampon glycolle-soude, et de substrat M/1000 avec 0,1 ml de préparation enzymatique. Au bout de 30 et 60 minutes, ajouter 10 ml de soude 0,02 N. Lire au spectrophotomètre à 410 mμ.

B) *Phosphatase acide* : Faire incuber dans des tubes à essais à 37° C : 1 ml du mélange à parties égales tampon citrique et substrat M/1000 avec 0,1 ml de solution enzymatique. Stopper la réaction au bout de 30 minutes et une heure en ajoutant 10 ml de soude 0,2 N, qui développe aussi la coloration. Lire au spectrophotomètre à 410 mμ.

L'appareil est réglé au zéro avec un tube contenant le substrat, le tampon et la soude.

Etalonnage : Mettre dans 11 tubes à essais :

0, 0,1, 0,2... 1 ml de solution de paranitrophénol M/2000.

1,1, 1,0, 0,9... 0,1 ml d'eau distillée.

Ajouter 10 ml de soude 0,02 N et lire rapidement les densités optiques à 410 mμ.

Résultats : Le foie, contrairement à de nombreux autres organes,

TABLEAU N° 3

ACTIVITES PHOSPHATASIQUES

Pourcentage de substrat métabolisé avec les homogénats de foie de Souris après intoxication au tétrachlorure de carbone

I. — ACIDE

Dilutions de l'homogénat		1/40				1/80			
Temps d'incubation (min.)		30		60		30		60	
Nom-bre d'ani-maux	Temps écoulé en heures après l'in-toxication	M	σ	M	σ	M	σ	M	σ
12	0	42,5	3,8	65,0	4,3	23,8	2,6	39,2	3,6
8	24	38,3	3,8	58,5	5,4	20,5	2,0	32,9	2,8
8	48	36,5	2,8	57,5	3,8	19,7	2,5	33,1	2,8
8	72	39,0	8,1	58,8	8,4	20,7	4,9	34,2	7,1
8	96	34,7	5,0	55,7	8,3	18,9	2,8	33,0	4,0

II. — ALCALINE

Dilutions de l'homogénat		1/20				1/40			
Temps d'incubation (min.)		30		60		30		60	
Nom-bre d'ani-maux	Temps écoulé en heures après l'in-toxication	M	σ	M	σ	M	σ	M	σ
12	0	31,3	15,5	45,1	19,7	14,3	9,9	22,9	15,0
8	24	44,2	12,6	63,1	18,5	22,3	8,8	33,1	11,7
8	48	55,7	16,7	74,3	12,5	33,0	14,0	50,8	19,8
8	72	56,7	6,6	74,2	5,1	28,5	4,0	43,6	4,4
8	96	43,8	13,3	62,3	14,5	21,9	8,6	34,4	12,2

est plus riche en phosphatase acide qu'en phosphatase alcaline : à la même dilution de 1/40, 22,9 p. 100 de substrat sont métabolisés en 60 minutes par la phosphatase alcaline, et 65 p. 100 par la phosphatase acide. 24 heures après l'intoxication des Souris par le CCl_4 , la phosphatase acide diminue légèrement dans le foie alors que la phosphatase alcaline y augmente nettement. Au bout de 48 heures, la phosphatase acide diminue encore mais très légèrement; quant à l'alcaline, elle continue d'augmenter les deuxième et troisième jours atteignant un maximum sensiblement égal au double de la valeur normale. Enfin, le quatrième jour, l'acide reste faiblement basse, et l'alcaline diminue nettement mais reste très élevée par rapport à la valeur normale.

Ces résultats, reportés sur les graphiques page 70 et le tableau n° 3, ont déjà été publiés succinctement (9).

CHAPITRE VI

ACTIVITE 5-NUCLEOTIDASIQUE

Généralités : Cette enzyme se classe parmi les phosphomonoestérases à spécificité particulière. Ses variations dans le foie et le rein de Souris au cours de l'intoxication expérimentale au tétrachlorure de carbone ou au nitrate d'uranyle ont déjà fait l'objet d'une publication (10).

Dosage. Principe : La 5-nucléotidase, ou adénosine-mono-phosphatase spécifique (A.M.P.ase) hydrolyse les nucléotides dans lesquels le phosphate est attaché en position 5 du pentose.

La méthode utilisée est celle de CAMPBELL (83) : elle utilise le fait que la 5-nucléotidase spécifique est inhibée par l'ion Ni^{++} . Le principe se ramène à doser le phosphore libéré à pH 7,5, à partir de l'A.M.P., d'une part en l'absence de nickel, par la 5-nucléotidase et la phosphatase alcaline, d'autre part en présence de nickel, uniquement par la phosphatase alcaline. La différence entre les deux résultats représente l'activité 5-nucléotidasique.

Le phosphore libéré est dosé selon la méthode de FISKE et SUBBAROW (156).

Réactifs : — Sulfate de manganèse, 20 mM ; P.M. = 169,01 soit 3,3802 g/l.

— Tampon barbital 40 mM ; ajuster à pH 7,5 avec HCl N/10 (8,248 g/l).

— A.M.P. 10 mM ; P.M. = 411, soit 4,11 mg/ml.

— Chlorure de nickel 0,1 M ; P.M. = 237,7 soit 23,77 g/l.

— Acide trichloracétique à 15 p. 100.

— Solution de $\text{PO}_4\text{H}_2\text{K}$ à 0,5 mM (pour l'étalonnage).

— Réactif de FISKE :

Acide 1-amino-2-naphtol-4-sulfonique	0,2 g.
Métabisulfite de sodium	12 g.
Sulfite anhydre de sodium	1,2 g.
Eau distillée q.s.p.	100 ml.

— Molybdate acide d'ammonium :

Molybdate d'ammonium	5 g.
SO_3H_2 concentré	14,7 g.
Eau distillée q.s. pour	100 ml.

Mode opératoire : Incuber à 37° C deux séries de tubes A et B.

	A	B
Solution enzymatique	0,2 ml	0,2 ml
Sulfate de manganèse	0,1 ml	0,1 ml
Chlorure de nickel	0	0,2 ml
Tampon barbital	1,5 ml	1,3 ml
A.M.P.	0,2 ml	0,2 ml

Au terme de l'incubation (30 et 60 minutes), déféquer par addition de 2 ml d'acide trichloracétique à 15 p. 100. Centrifuger; prélever 2 ml de surnageant; doser le phosphore selon FISKE et SUBBAROW :

Ajouter :

- 1 ml de molybdate d'ammonium en milieu sulfurique;
- 4 ml d'eau dist.;
- 0,5 ml de Réactif de FISKE;
- Eau distillée q.s.p. 10 ml.

Attendre 5 minutes et lire à 650 m μ . L'activité 5-nucléotidasique est donnée par A-B.

Etalonnage :

L'étalonnage se fait avec une solution de $\text{PO}_4\text{H}_2\text{K}$ à 0,0005 M, soit 6,8 mg pour 100 ml d'eau distillée (P.M. = 136,09). Mettre dans une série de tubes : 0 - 0,2 - 0,4... 1,8 - 2,0 ml de cette solution; compléter à 2 ml dans chaque tube avec de l'eau distillée; effectuer la coloration par la méthode de FISKE.

Résultats :

Le foie de Souris normale, dans nos conditions expérimentales, possède des activités 5-nucléotidasique et phosphatasique alcaline dosables sensiblement aux mêmes dilutions. Les variations au cours de l'intoxication au tétrachlorure de carbone s'effectuent pour ces deux enzymes dans le même sens mais sont moins amplifiées pour la 5-nucléotidase. En effet, 48 heures après l'intoxication, l'activité A.M.P.asique passe de 25,1 à 33,3 pour 100 de substrat métabolisé pendant 30 minutes, par un surnageant d'homogénat dilué au 1/25. Vers la 72^e heure, on observe au contraire une chute de quelques pour 100 en dessous de la normale, et enfin, vers la 96^e heure, un retour à la normale.

Ces résultats sont résumés dans le tableau n° 4 et illustrés par le graphique page 70.

TABLEAU N° 4

ACTIVITE A.M.P. asique SPECIFIQUE

Pourcentage de substrat métabolisé avec les surnageants d'homogénats de foie de Souris après intoxication au tétrachlorure de carbone

Dilutions de l'homogénat		1/25				1/50			
Temps d'incubation (min.)		30		60		30		60	
Nom- bre d'ani- maux	Temps en heures écoulé après l'in- toxication	M	σ	M	σ	M	σ	M	σ
10	0	25,1	8,5	34,5	7,4	13,6	8,1	19,6	5,6
6	24	26,9	12,6	38,3	7,4	18,3	10,1	25,6	10,3
6	48	33,3	7,8	42,3	15,7	20,1	8,4	25,3	12,7
6	72	16,8	6,2	29,0	9,9	9,8	3,7	16,5	5,1
6	96	24,5	6,5	46,0	9,5	14,5	3,5	23,5	3,8

CHAPITRE VII

ACTIVITE GLUTAMINASIQUE II

Généralités : Les glutaminases catalysent l'hydrolyse de la glutamine selon la réaction suivante :



On distingue deux types de glutaminase :

— La glutaminase I ou phosphoactivée dosée à pH 8,1, la seule vraie glutaminase.

— La glutaminase II ou pyruvoactivée qui, en fait, fonctionne comme une transaminase.

Dosage. Principe : Notre méthode de dosage est celle de BEATON (39). Elle se ramène à doser par le réactif de NESSLER, l'ammoniaque libérée à partir de la glutamine sous l'influence de l'enzyme.

Pour chaque dilution, pour chaque temps d'incubation, les expériences sont faites en double, l'une en présence, l'autre en l'absence de pyruvate. La différence nous donne ainsi l'activité glutaminasique pyruvoactivée.

Réactifs : — L-glutamine 10 μ mole/ml. P.M. = 146,15, soit 1,4615 mg/ml (extemporanée).

— Pyruvate de sodium 15,9 μ mole/ml (P.M. = 110,1), soit 1,7505 mg/ml.

— Tampon barbital 0,01 M pH = 7,7 : 36 ml HCl 0,01 N; 64 ml sol. Barbital Na à 2,062 g/l.

— SO_4H_2 0,7 N (4,7 ml SO_4H_2 pur/250 ml).

— Tungstate de sodium : à 7 p. 100.

— Persulfate de potassium à 1 p. 100.

A conserver au maximum congelé 6 jours.

— Réactif de NESSLER :

I_2Hg	45,5 g.
IK	34,9 g.
Eau distillée	150 ml.
KOH	112 g.
Eau distillée q.s.p.	1 000 ml.

Fillrer.

— $\text{SO}_4(\text{NH}_4)_2$: 5,0 μ mole/ml P.M. = 132,15, soit 0,66075 mg/ml.

Mode opératoire : Incuber à 37° C dans des tubes bouchés, en agi-

	A	B
Sol. enzymatique	1 ml	1 ml
L-glutamine	1 ml	1 ml
Tampon barbital	1 ml	1 ml
Pyruvate de sodium	0 ml	1 ml
Eau distillée	1 ml	0 ml

tant de temps en temps, deux séries de tubes A et B contenant les produits suivants :

Au bout d'une et deux heures d'incubation, ajouter dans les deux séries de tubes :

2 ml SO_4H_2 0,7 N; boucher, agiter pendant 5 minutes. Puis : 2 ml tungstate de sodium à 7 p. 100; agiter, centrifuger. Prélever 4 ml de surnageant, ajouter 4 ml persulfate-gluconate (stabilisateur) mélangés à parties égales et dilués au demi avec de l'eau. Boucher, agiter; ajouter 1 ml de réactif de Nessler. Boucher, agiter immédiatement; attendre 5 minutes, lire au photocolorimètre à 450 m μ .

Etalonnage :

Il est effectué avec des solutions de SO_4Am_2 que l'on traite de même en déféquant.

Résultats : Le foie de Souris possède une nette activité glutaminasique pyruvoactivée et une très légère activité glutaminasique phospho-activée. Aussi, dans nos recherches expérimentales, au cours de l'intoxication au tétrachlorure de carbone, nous n'avons étudié que la première, dénommée encore Glutaminase II.

Nous avons utilisé des homogénats de foie de Souris centrifugés pendant 5 minutes à 1 500 t/mn dans la centrifugeuse réfrigérée et dilués au 1/10 et au 1/20. 24 heures après l'administration du toxique aux Souris, l'activité glutaminasique II commence à diminuer dans le foie. 48 heures après, cette baisse s'accroît et atteint un optimum ; au bout de 2 heures d'incubation, 42 p. 100 de substrat sont en effet métabolisés au temps 0 avec une dilution au 1/10 et 23,0 p. 100 au temps 48 heures dans les mêmes conditions, ce qui correspond à une chute d'environ 50 p. 100 par rapport à la normale.

A la 96^e heure, cette activité enzymatique remonte lentement, mais n'arrive pas à reprendre tout à fait sa valeur initiale.

Ces résultats sont résumés dans le tableau n° 5 et imagés par le graphique page 70.

TABLEAU N° 5

ACTIVITE GLUTAMINASIQUE II (pyruvo-activée)

Pourcentage de substrat métabolisé par les surnageants d'homogénats de foie de Souris après intoxication au tétrachlorure de carbone

Dilutions de l'homogénat		1/10				1/20			
Temps d'incubation (min.)		60		120		60		120	
Nom- bre d'ani- maux	Temps en heures écoulé après l'in- toxication	M	σ	M	σ	M	σ	M	σ
12	0	24,5	4,0	42,1	6,8	9,1	1,0	19,4	2,8
8	24	18,1	7,4	34,0	8,9	7,6	5,0	16,5	4,0
8	48	12,7	3,0	23,0	4,2	2,9	3,6	10,7	2,5
8	72	11,2	5,8	26,5	2,3	3,6	2,7	15,0	6,1
8	96	16,7	4,4	34,8	8,4	4,0	1,5	15,7	4,4

CHAPITRE VIII

ACTIVITES TRANSAMINASIQUES

Généralités : Les transaminases catalysent le transfert du groupement NH_2 d'un acide aminé sur un acide cétonique.

Ce processus de transamination intéresse la majeure partie des acides aminés et constitue une réaction importante de leur métabolisme. Dans le foie, il existe deux principaux systèmes transaminasiques :

— La « glutamic-oxaloacetic-transaminase » ou G.O.T. qui catalyse la réaction suivante :



— La « glutamic-pyruvic-transaminase » ou G.P.T. qui catalyse la réaction :



Ces activités transaminasiques ont fait l'objet de nombreux travaux, dans le laboratoire des Professeurs DASTUGUE et BASTIDE, portant sur différents organes : plaquettes (119, 116), placenta (118)... et leurs variations dans le foie et le rein de Souris au cours d'intoxications expérimentales au nitrate d'uranyle et au tétrachlorure de carbone ont déjà été succinctement publiées (35).

Dosage. Principe : La technique utilisée est celle de REITMAN et FRANKEL (370) qui consiste à mesurer le taux d'oxaloacétate ou de pyruvate formé, par appréciation photocolorimétrique de leurs hydrazones.

Réactifs : Substrats : — G.O.T. : α -cétoglutarate 2 mM/l; d-L-aspartate 200 mM/l.

Mettre dans un mortier 29,2 mg d'acide α -cétoglutarique et 2,66 g d'acide d-L-aspartique. Ajouter NaOH N jusqu'à dissolution totale (15 ml). Ajuster à pH 7,4 avec de l'HCl N. Transvaser dans un ballon jaugé de 100 ml. Compléter avec une solution tampon phosphate pH 7,4.

— G.P.T. : α -cétoglutarate 2 mM/l; d-L-alanine 200 mM/l.

Mettre dans un mortier 29,2 mg d'acide α -cétoglutarique et 1,78 g d'alanine. Ajouter de la NaOH N 1,5 ml environ jusqu'à dissolution totale. Ajuster comme précédemment le pH et compléter à 100 ml avec le tampon.

— Tampon phosphate 0,1 M, pH 7,4 :

— 420 ml phosphate disodique cristallisé R.P. 0,1 M : 35,8 g/l.

— 80 ml phosphate monopotassique 0,1 M : 13,7 g/l.

— Pyruvate de sodium : 2 mM/l (pour l'étalonnage), soit 22 mg de pyruvate dans 100 ml tampon phosphate.

— 2,4-dinitrophénylhydrazine : 1 mM/l, soit 19,8 mg de 2-4 DNPH dans 100 ml ClH N (à l'abri de la lumière).

— NaOH 0,5 N.

— Solution d'acide trichloracétique à 10 % dans l'eau distillée.

ACTIVITES TRANSAMINASIQUES

Pourcentage de substrat métabolisé avec les surnageants d'homogénats de foie de Souris après intoxication au tétrachlorure de carbone

I. — G.O.T.

Dilutions de l'homogénat		1/100				1/200				1/500			
Temps d'incubation (min.)		30		60		30		60		30		60	
Nombre d'animaux	Temps en heures écoulé après l'intoxication	M	σ	M	σ	M	σ	M	σ	M	σ	M	σ
12	0	31,6	9,5	41,8	2,0	23,0	2,2	34,0	3,2	12,2	1,7	21,1	2,6
8	24	27,6	1,7	38,8	2,2	19,1	1,2	30,4	2,1	10,9	1,7	17,6	3,0
8	48	28,3	4,9	39,5	4,9	19,2	3,9	32,7	6,1	10,2	6,7	19,5	4,2
8	72	28,3	7,1	42,8	3,2	20,4	5,5	34,6	8,0	10,0	1,7	17,3	4,5

II. — G.P.T.

Dilutions de l'homogénat		1/100				1/200				1/500			
Temps d'incubation (min.)		30		60		30		60		30		60	
Nombre d'animaux	Temps en heures écoulé après l'intoxication	M	σ	M	σ	M	σ	M	σ	M	σ	M	σ
12	0	67,7	7,6	73,5	6,4	49,0	6,4	62,7	7,8	23,3	5,9	37,1	6,8
8	24	54,5	5,2	69,2	4,4	35,8	7,3	51,2	8,5	15,8	4,8	25,8	6,7
8	48	55,7	10,8	69,5	11,8	40,1	9,7	55,8	9,4	18,2	5,6	29,4	6,7
8	72	64,3	4,5	71,1	1,0	43,8	5,7	57,7	7,6	19,7	4,2	32,1	5,3

Mode opératoire : Dans des tubes à centrifuger, maintenir au B.M. à 37° C pendant 30 et 60 minutes :

- 0,25 ml de solution enzymatique;
- 1,25 ml de substrat G.O.T. ou G.P.T.;
- 1,25 ml de la solution de tampon phosphate.

Au terme de l'incubation, déféquer avec 1 ml de la solution d'acide trichloracétique à 10 %; centrifuger; prélever 3 ml du surnageant, ajouter 1 ml de la solution de 2-4 D.N.P.H. Laisser reposer 20 minutes; ajouter 8 ml de soude 0,5 N; agiter; après 30 minutes de repos, apprécier la coloration obtenue au photolorimètre sur 505 m μ .

Témoins : Pour chaque série de dosages, préparer 2 tubes témoins, l'un mis à incuber, renfermant tous les réactifs sauf la préparation enzymatique qui est remplacée par une quantité équivalente d'eau distillée, l'autre non incubé et renfermant tous les réactifs.

Étalonnage : Il se fait avec du pyruvate de sodium. Introduire dans 11 tubes :

0, 0,1, 0,2... 1 ml de la solution de pyruvate étalon (correspondant à 0, 10, 20 p. 100... d'hydrolyse enzymatique).

1, 0,9, 0,8... 0 ml du substrat G.O.T. ou G.P.T. pour la gamme étalon de chaque enzyme.

1 ml de solution tampon phosphate.

0,2 ml d'eau distillée.

Opérer ensuite comme précédemment sans incubation.

Résultats : Les résultats expérimentaux témoignent une activité très élevée de G.P.T. par rapport à G.O.T. dans le foie normal, chez la Souris. Au bout de 30 minutes d'incubation, à la dilution de 1/200, 49,0 p. 100 de substrat sont métabolisés sous l'influence de G.P.T. et 23,0 p. 100 seulement sous l'influence de G.O.T. à 37° C.

24 heures après l'intoxication au tétrachlorure de carbone, le foie s'avère très légèrement moins riche en G.O.T. et plus nettement en G.P.T. Au bout de 48 heures, ces deux activités conservent sensiblement cette baisse. Au bout de 72 heures, elles remontent lentement et font presque retour à la normale.

Ces résultats pour G.O.T. sont constants quels que soient la dilution et le temps d'incubation; pour G.P.T. les variations sont plus nettes au bout de 30 minutes qu'au bout de 60 minutes.

Ces résultats sont transcrits dans le tableau n° 6 et illustrés par les graphiques page 70.

CHAPITRE IX

ACTIVITE ORNITHINE-CARBAMYL-TRANSFERASIQUE

Généralités : L'ornithine-carbamyl-transférase (O.C.T.) transforme l'ornithine en citrulline par le transfert d'un groupement carbamyl selon le schéma suivant :



Chez les Mammifères, cette enzyme est localisée principalement dans le foie. Ses variations hépatiques, au cours de l'intoxication tétrachlorée, ont déjà fait l'objet d'une publication (36).

Dosage. Principe : La méthode utilisée est celle de BROWN et GRI-SOLIA (63) adaptée par BASTIDE et coll. (34) :

La citrulline formée à partir de l'ornithine et du carbamylphosphate de lithium sous l'action de l'O.C.T. est appréciée au photocolorimètre, après coloration avec la diacétylmonoxime. L'urée présente dans le foie ou le sérum, qui pourrait interférer avec l'estimation colorimétrique de la citrulline, est décomposée avec l'uréase.

Réactifs : — Tampon phosphate 0,1 M : pH = 7,0.

— Dilithium carbamyl-phosphate (D.L.C.P.) 100 μ M, P.M. = 154, soit 0,0154 g + 20 mg uréase pure à 4 p. 100 + tampon phosphate 0,1 M de pH = 7,0 q.s.p. 10 ml. A préparer extemporanément.

— L-ornithine, HCl, 0,05 M (P.M. = 205,1), soit 0,10255 g/10 ml (extemporanée).

— Acide perchlorique N ($\text{ClO}_4\text{H} = 100,5$). Le produit du commerce est à 60 ou 72 p. 100.

— Mélange : 3 vol. SO_4H_2 conc. + 1 vol. PO_4H_3 conc.

— Diacétylmonoxime : sol. aqueuse à 3 p. 100.

— Citrulline (pour l'étalonnage) P.M. = 175,19, soit 0,625 μ M dans 5 ml. Faire une solution mère à 109,5 mg pour 50 ml. La diluer au 1/100 : 1 ml sol. mère + eau dist. q.s.p. 100 ml.

Mode opératoire : — Pipeter dans des tubes à centrifuger :

1 ml sol. D.L.C.P. tamponnée;

1 ml L-ornithine 0,05 M;

2 ml solution enzymatique.

— Mélanger et incuber à 37° C une série de tubes pendant 15 minutes, une autre 30 minutes.

— Déprotéiniser par 4 ml d'acide perchlorique; centrifuger pendant 10 minutes.

— Prélever 0,5 ml du surnageant. Ajouter :

H_2O q.s.p. 5 ml.

Mélange $\text{SO}_4\text{H}_2\text{-PO}_4\text{H}_3$ 2 ml.

Diacétylmonoxime (sol.) 0,25 ml.

Fermer à l'aide de bouchons percés d'un trou traversé par un petit

tube de verre. Porter pendant quinze minutes au bain-marie à 100° C. Refroidir à l'obscurité; lire au photocolorimètre à 480 mμ.

Effectuer les témoins suivants :

— Témoin 0 : 1 ml D.L.C.P. + 1ml ornithine + 2 ml d'eau dist. (non incubé).

— Témoin spontané : 1 ml D.L.C.P. + 1 ml ornithine + 2 ml eau dist. (à incubé).

— Témoin coloration : 1 ml D.L.C.P. + 2 ml enzyme; incubé; ajouter : acide perchlorique + ornithine 1 ml.

Etalonnage : La gamme est effectuée avec la solution de citrulline diluée au 1/100 déjà préparée. Répartir dans les tubes spéciaux :

0, 0,5, 1,0... 4,5, 5,0 ml sol. de citrulline.

5,0, 4,5, 4,0... 0,5, 0 ml eau distillée.

Ajouter 2 ml du mélange PO₄H₃ + SO₄H₂ et continuer la coloration comme précédemment.

Résultats : Le foie est un organe riche en ornithine-carbamyl-transférase et l'on peut même dire que cette enzyme est quasi spécifique du tissu hépatique. 39,3 p. 100 de substrat sont métabolisés pendant trente minutes d'incubation par un surnageant d'homogénat de foie de Souris dilué au 1/400. Cette teneur en activité O.C.T. asique demeure inchangée 24 heures après l'administration de tétrachlorure de carbone alors qu'elle diminue brusquement et d'une façon très marquée au bout de 48 heures : 44,8 p. 100 de substrat sont métabolisés au bout de 15 minutes d'incubation par une dilution au 1/200 au temps 0 et 26,1 p. 100 dans les mêmes conditions mais 48 heures après l'intoxication, soit une chute de 50 p. 100 environ. A la 72^e heure, une faible remontée de quelques p. 100 se produit et à la 96^e heure cette activité enzymatique reste toujours basse par rapport à la normale. Ces résultats sont résumés dans le tableau n° 7 et reproduits sur le graphique page 70.

TABLEAU N° 7

ACTIVITE ORNITHINE-CARBAMYL-TRANSFERASIQUE (O.C.T.)

Pourcentage de substrat métabolisé avec les surnageants d'homogénats de foie de Souris après intoxication au tétrachlorure de carbone.

Dilutions de l'homogénat		1/200				1/400			
Temps d'incubation (min.)		15		30		15		30	
Nom- bre d'ani- maux	Temps en heures écoulé après l'in- toxication	M	σ	M	σ	M	σ	M	σ
12	0	44,8	8,6	56,2	4,4	26,3	7,9	39,3	9,3
8	24	45,3	8,1	58,3	3,2	25,7	6,7	45,3	12,4
8	48	26,1	6,4	42,2	10,5	15,3	4,9	24,7	7,8
8	72	32,2	7,0	50,9	6,3	24,7	7,6	30,2	6,6
8	96	30,1	6,1	53,0	5,0	16,7	6,2	27,9	7,4

CHAPITRE X

ACTIVITE LACTICODESHYDROGENASIQUE

Généralités : La lacticodéshydrogénase ou lacticodéhydrase ou pyruvate-réductase est une enzyme qui catalyse la réduction de l'acide pyruvique en acide lactique, selon le schéma suivant :



Cette enzyme est très répandue; elle existe à l'état normal dans le sérum animal et humain et a fait l'objet d'un bon nombre de travaux en clinique humaine. Les Professeurs DASTUGUE et BASTIDE l'ont recherchée et dosée dans le placenta (33), les différents constituants du sang (117), la rétine (115).

Dosage : Plusieurs méthodes de dosage ont été décrites, celle de BERGER et BROIDA (46) reprise par CABAUD et WROBLEWSKI (73) a été retenue.

Principe : La lacticodéshydrogénase transforme à pH 7,8 et en présence de D.P.N.H. l'acide pyruvique en acide lactique et D.P.N. L'acide pyruvique restant réagit avec la 2-4-dinitrophénylhydrazine pour former une hydrazone colorée, appréciée à 400-550 m μ en milieu sodique. Les autres composés sont incolores.

Réactifs : — Tampon phosphate à pH 7,8 (SORENSEN) :

Sol. A : PO₄H₃K M/15 à 9,078 g/l.

Sol. B : PO₄HNa₂, 12 H₂O M/15 à 23,870 g/l.

Mélanger 91,5 ml de B et 8,5 ml de A. Ajuster le pH.

— Solution de pyruvate de sodium à 110 mg/l, soit 0,001 M. Faire la solution dans le tampon, soit 11 mg de pyruvate dans 100 ml de tampon. Cette solution se conserve moins de 2 semaines congelée.

— Solution de diphosphopyridinenucléotide réduit (D.P.N.H.) à 10 mg pour 1 ml d'eau distillée. Faire cette solution dans un bain de glace et l'utiliser immédiatement, elle ne se conserve pas. Le D.P.N.H. est stocké en chambre froide dans des flacons bien bouchés.

— Solution de soude à 0,4 N à 16 g/l.

— Solution de 2-4-dinitrophénylhydrazine :

200 mg de 2-4-D.N.P.H.

85 ml HCl concentré.

Eau distillée q.s.p. 1 litre

A conserver à + 4° C à l'obscurité.

Mode opératoire : Dans chaque tube, introduire 1 ml de solution de pyruvate de sodium; placer à 37° C quelques secondes. Ajouter ensuite 0,1 ml de solution enzymatique et 0,1 ml de D.P.N.H. Agiter, remettre au bain-marie à 37° C et laisser incuber une série de tubes pendant 15 minutes et une autre 30 minutes. Au terme de l'incubation sortir du bain-marie, ajouter 1 ml de solution de 2-4-dinitrophénylhydrazine qui arrête la réaction et développe la coloration. Attendre 20 minutes à la température du laboratoire, puis ajouter 10 ml de soude 0,4 N. Agiter par retournement, attendre au moins 5 minutes après addition

de la soude mais pas plus de 30 minutes pour faire la lecture au photocolorimètre à 525 mμ.

Etalonnage : Il est effectué avec une solution de pyruvate étalon à 0,001 M. Répartir dans 11 tubes :

0, 0,1, 0,2... 0,9, 1 ml de sol. de pyruvate.

1,2, 1,1, 1,0... 0,3, 0,2 ml d'eau distillée.

Ces tubes correspondent respectivement à 100, 90, 80... 10, 0 p. 100 d'activité enzymatique. La coloration est effectuée comme précédemment. L'appareil est réglé au maximum de coloration correspondant à 1 ml de pyruvate de sodium, par un tube contenant :

1 ml de solution de pyruvate;

0,1 ml de solution enzymatique;

0,1 ml d'eau distillée;

et coloré comme précédemment.

L'activité spontanée (nulle ou très faible) sera mesurée à l'aide d'un tube contenant :

1 ml de solution de pyruvate;

0,1 ml de D.P.N.H.;

0,1 ml d'eau distillée.

Résultats : L'activité lacticodéshydrogénasique est relativement élevée dans le foie de Souris normale; elle est dosée en effet à partir d'un surnageant d'homogénat dilué au 1/500 et au 1/1000.

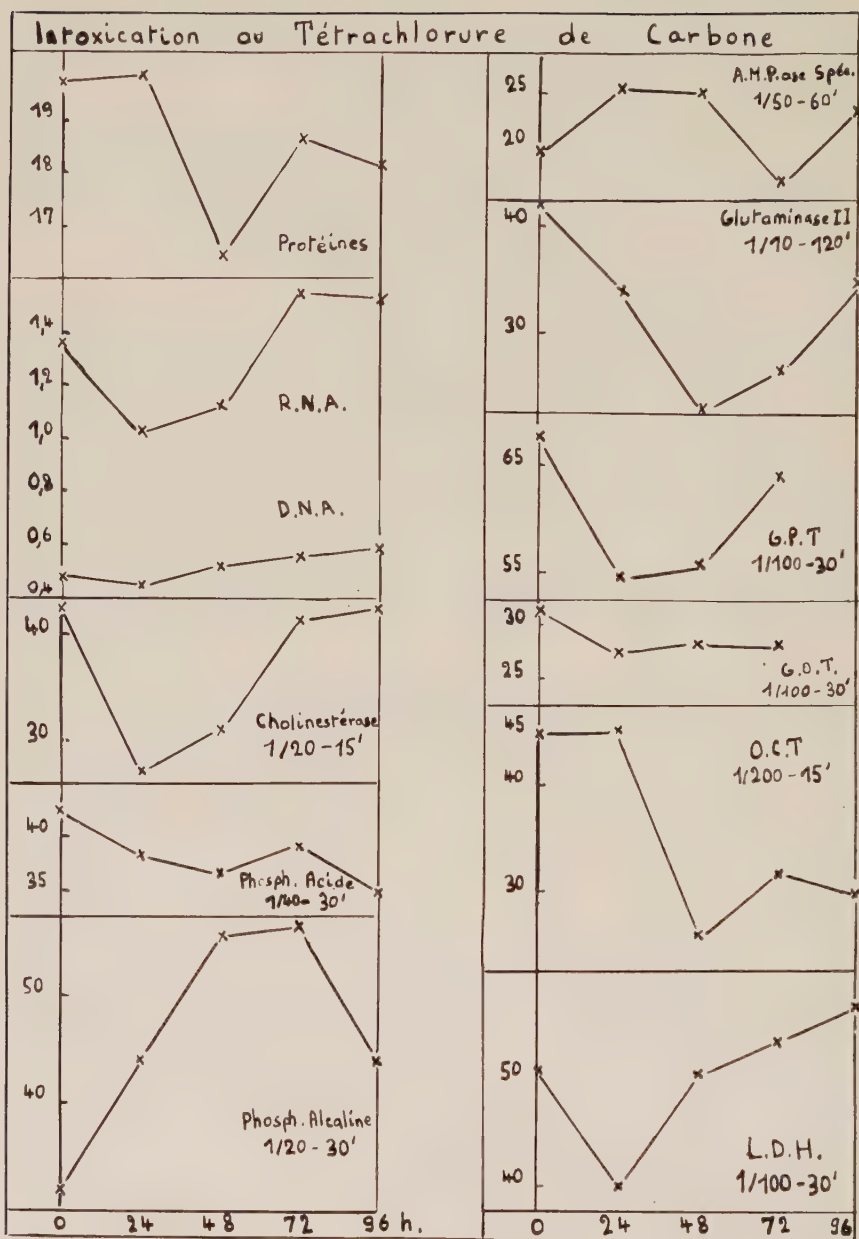
Cette activité est affectée, 24 heures après l'intoxication par le tétrachlorure de carbone, d'une baisse légère mais nette quels que soient la dilution et le temps d'incubation. Vers 48 heures et 72 heures après, le retour à la normale se produit alors que vers la 96^e heure une faible augmentation semble apparaître (tableau n° 8, graphique page 70).

TABLEAU N° 8

ACTIVITE LACTICO-DEHYDROGENASIQUE

Pourcentage de substrat métabolisé avec les surnageants d'homogénats de foie de Souris après intoxication au tétrachlorure de carbone

Dilutions de l'homogénat		1/500				1/1000			
Temps d'incubation (min.)		15		30		15		30	
Nom- bre d'ani- maux	Temps en heures écoulé après l'in- toxication	M	σ	M	σ	M	σ	M	σ
10	0	54,9	6,8	74,3	7,0	32,7	6,1	50,7	7,8
6	24	47,3	6,9	62,3	7,5	27,2	4,5	39,8	7,5
6	48	54,7	3,7	76,3	2,4	33,6	4,5	50,5	3,2
6	72	52,7	6,8	75,2	7,4	31,2	8,7	53,6	7,5
6	96	60,8	7,6	79,1	4,5	39,1	7,1	56,8	5,9



Graphiques représentant les variations, dans le foie, des protéines, A.R.N., A.D.N. (exprimés en g pour 100 g de foie frais) et des différentes activités enzymatiques (exprimées en p. 100 de substrat métabolisé avec une dilution d'homogénat donnée en un temps donné), au bout de 0, 24, 48, 72, 96 heures après l'administration de CCl_4 .

2. — INTOXICATION AU NITRATE D'URANYLE

CHAPITRE PREMIER

GENERALITES

Mode d'intoxication :

Nous avons injecté à des Souris blanches en une seule fois, par voie intrapéritonéale, une solution aqueuse à 400 mg/l de nitrate d'uranyle cristallisé (6 H₂O) à la dose de 1 ml par 20 g de poids corporel.

Les animaux étaient sacrifiés 24, 48, 72, 96 heures après l'injection et les préparations enzymatiques obtenues de la même manière que dans le cas de l'intoxication au tétrachlorure de carbone.

Etude histologique :

Nous avons vérifié histologiquement les lésions produites par deux doses toxiques de nitrate d'uranyle, à savoir 1 ml et 0,5 ml de solution à 400 mg/l par 20 g de poids corporel et avons remarqué que les lésions hépatiques étaient peu différentes dans les deux cas.

Les animaux présentaient des images d'hépatite toxique, légère, par plages avec quelques lésions cytoplasmiques des hépatocytes de type vacuolisation, hyalinisation. Le maximum des lésions se produisait le troisième jour. Mais l'importance des altérations était comparativement plus réduite qu'au niveau du rein.

Activités enzymatiques :

Les activités enzymatiques testées sont les mêmes que dans l'intoxication au tétrachlorure de carbone, aussi nous ne répéterons pas le protocole des dosages et donnerons simplement les résultats expérimentaux résumés et illustrés dans des tableaux.

CHAPITRE II

DOSAGE DES PROTEINES SELON LA METHODE DU BIURET

Cette méthode de dosage a pu être appliquée pour doser les protéines du foie au cours de l'intoxication au nitrate d'uranyle, car la dégénérescence graisseuse de ce tissu n'était pas suffisamment importante pour fausser le dosage colorimétrique.

Principe : Les protéines biurétiques donnent en présence du réactif cuprotartrique de GORNALL une coloration violette stable, appréciée au photocolorimètre; c'est la technique de FLEURY et EBERHARD (161).

Réactifs : — Solution protéique à concentration de 0 à 6 g/l.

— Réactif cuprotartrique de GORNALL :

SO ₄ Cu	1,5 g.
Tartrate double de K et Na	6 g.
Soude en pastilles (décarbonatée)	30 g.
IK	1 g.
Eau distillée q.s.p.	1 000 ml.

A conserver à l'obscurité dans un flacon de polythène.

Mode opératoire : Mélanger 2 ml de solution de protéines, 8 ml de réactif de GORNALL. Abandonner pendant 30 minutes à la température du laboratoire. Apprécier la coloration au photocolorimètre à 540 mμ. Le tube témoin servant à régler le photocolorimètre est préparé en remplaçant la solution à doser par une quantité équivalente d'eau distillée.

Etalonnage : La déviation obtenue est comparée à celle des tubes témoins d'une gamme étalon en solution d'albumine à 1 %, réactif STALABO (fourni par les laboratoires Cooper, Melun (Seine-et-Marne). solution titrée et stabilisée d'albumine à 1 %), soit 4 tubes renfermant chacun 2 ml de cette solution d'albumine diluée respectivement au 1/2, 1/4, 1/6, 1/12 et 8 ml de réactif de GORNALL.

TABLEAU N° 9

Protéines biurétiques après intoxication au nitrate d'uranyle
En gramme pour 100 grammes de foie frais :

Nombre d'animaux	Temps écoulé en heures après l'intoxication	M	σ
12	0	15,9	3,2
6	24	15,3	0,85
6	48	16,7	2,2
6	72	19,4	1,14
6	96	21,3	1,99

Résultats : Le foie de Souris témoin contient 1,59 g de protéines biurétiques par litre d'homogénat au 1/100. 24 heures après l'intoxication, ce taux protéique n'a pas varié alors que dès la 48^e heure il amorce une légère augmentation maximum vers la 96^e heure (tableau n° 9).

Remarque : Par cette méthode, nous dosons seulement les protéines biurétiques, aussi nous remarquons que les résultats concernant le foie de Souris témoin sont inférieurs à ceux trouvés par la méthode de KJELDAHL.

CHAPITRE III

ACTIVITES CHOLINESTERASIQUES

Résultats : Les variations de cette activité dans le foie et le rein de Souris, au cours de l'intoxication au nitrate d'uranyle, ont fait l'objet d'une publication (11).

En ce qui concerne le foie, les moyennes des résultats figurent au tableau n° 10 et sont exprimées en pourcentage d'acétylcholine métabolisée après 15 et 30 minutes d'incubation par les homogénats de foie dilués au 1/20 et au 1/40.

TABLEAU N° 10
ACTIVITE CHOLINESTERASIQUE
Pourcentage d'acétylcholine métabolisée avec les homogénats de foie de Souris après intoxication au nitrate d'uranyle

Dilutions de l'homogénat		1/20				1/40			
Temps d'incubation (min.)		15		30		15		30	
Nom- bre d'ani- maux	Temps écoulé en heures après l'in- toxication	M	σ	M	σ	M	σ	M	σ
20	0	42,0	9,0	65,0	7,7	29,0	6,3	48,0	6,3
8	24	42,5	10,9	63,0	12,6	27,0	7,9	44,5	9,2
8	48	31,5	9,3	53,0	11,8	23,5	4,5	34,5	7,1
8	72	36,5	8,2	59,0	7,0	25,0	4,5	39,5	4,8
8	96	50,5	8,6	71,0	9,0	31,5	7,5	50,0	8,6

24 heures après l'intoxication, nous observons une baisse minime de l'activité cholinestérase, qui est maximum et très marquée vers la 48^e heure : 42,0 p. 100 d'acétylcholine sont métabolisés au temps 0 par une dilution au 1/20 au bout de 15 minutes d'incubation et seulement 31,5 p. 100 à la 48^e heure dans les mêmes conditions. 72 heures après, cette activité remonte légèrement et vers la 96^e heure semble même dépasser la valeur normale.

Résultats au point de vue histo-enzymologique (Prof. TURCHINI) : Chez les témoins, on observe une réaction granulaire diffuse dans le cytoplasme des cellules hépatiques; la réaction est positive sur la paroi des vaisseaux et des canaux biliaires dans les espaces portes.

Chez les traités, la réaction paraît diminuer d'intensité sur le tissu hépatique.

CHAPITRE IV

ACTIVITES PHOSPHATASIQUES ACIDE ET ALCALINE

Résultats : 24 heures après l'injection du nitrate d'uranyle, la phosphatase acide se maintient à son taux normal; 48 heures après, se produit une hausse rapide, nette : alors que 65,0 p. 100 de substrat sont métabolisés par une dilution au 1/40 pendant 60 minutes au temps 0, 62,0 p. 100 le sont à la 24^e heure et 78,1 p. 100 à la 48^e heure. A la 72^e heure, cette activité phosphatasique acide descend jusqu'à quelques p. 100 au-dessous de la normale et à la 96^e heure, elle est revenue à peu près à sa valeur initiale.

Quant à la phosphatase alcaline, elle manifeste vers la 24^e heure une chute rapide et très accentuée : au temps 0, 22,9 p. 100 de substrat sont métabolisés par une dilution au 1/40 au bout de 60 minutes d'incubation et 11,7 p. 100 à la 24^e heure. A la 48^e heure, cette activité alcaline amorce une augmentation et réatteint de ce fait sa valeur normale. Vers la 72^e heure et à la 96^e heure, une nouvelle et légère baisse se produit.

Ces résultats sont transcrits dans le tableau n° 11.

TABLEAU N° 11

ACTIVITES PHOSPHATASIQUES

Pourcentage de substrat métabolisé avec les surnageants d'homogénats de foie de Souris après intoxication au nitrate d'uranyle

I. — ACIDE

Dilutions de l'homogénat		1/40				1/80			
Temps d'incubation (min.)		30		60		30		60	
Nom- bre d'ani- maux	Temps en heures écoulé après l'in- toxication	M	σ	M	σ	M	σ	M	σ
12	0	42,5	3,8	65,0	4,3	23,8	2,6	39,2	3,6
6	24	45,0	9,9	62,0	8,8	23,9	6,6	38,2	8,1
6	48	57,3	5,1	78,1	6,5	31,5	3,6	44,6	9,3
6	72	34,0	2,7	56,3	7,5	18,8	1,0	32,3	5,7
6	96	37,8	2,0	60,8	2,9	21,0	1,0	36,8	2,0

II. — ALCALINE

Dilutions de l'homogénat		1/20				1/40			
Temps d'incubation (min.)		30		60		30		60	
Nom- bre d'ani- maux	Temps en heures écoulé après l'in- toxication	M	σ	M	σ	M	σ	M	σ
12	0	31,3	15,5	45,1	19,7	14,3	9,9	22,9	15,0
6	24	14,6	2,8	22,5	5,1	7,0	1,6	11,7	2,2
6	48	19,6	3,6	30,0	5,0	10,1	1,9	16,8	3,1
6	72	27,0	10,0	43,5	7,8	14,6	6,9	23,0	10,5
6	96	23,1	5,7	34,3	3,5	11,1	2,5	17,0	2,7

CHAPITRE V

ACTIVITES TRANSAMINASQUES

Remarque : Nous avons utilisé la même technique de dosage que lors de l'intoxication tétrachlorée, avec une seule petite différence, celle de ne pas déféquer par l'acide trichloracétique, ce qui explique, en ce qui concerne le foie de Souris témoin, la variation de quelques p. 100 d'hydrolyse entre les deux méthodes.

Résultats : L'activité transaminasique glutamo-oxalo-acétique ne subit pas l'influence de ce toxique, quels que soient le temps d'incubation et la dilution.

L'activité transaminasique glutamo-pyruvique diminue de quelques p. 100 24 heures après l'intoxication. Cette baisse est maximum à la 48^e heure. Ensuite cette activité augmente progressivement et à la 96^e heure elle n'a pas encore réatteint sa valeur normale (tableau n° 12).

TABLEAU N° 12
 ACTIVITES TRANSAMINASIQUES
 Pourcentage de substrat métabolisé avec les surnageants d'homogénats
 de foie de Souris après intoxication au nitrate d'uranyle
 I. — G.O.T.

Dilutions de l'homogénat		1/100				1/200				1/500			
		30		60		30		60		30		60	
Nombre d'animaux	Temps en heures écoulé après l'intoxication	M	σ	M	σ	M	σ	M	σ	M	σ	M	σ
12	0	28,7	3,3	41,5	5,3	22,5	4,5	33,9	3,3	13,1	3,5	22,3	3,2
6	24	28,6	2,5	44,5	4,0	22,0	2,3	39,1	4,6	16,8	5,1	25,2	2,8
6	48	27,0	3,3	36,4	3,4	18,5	2,0	30,7	3,1	11,2	2,1	18,6	2,7
6	72	28,5	4,1	46,3	3,9	24,5	4,9	37,6	2,4	12,8	4,0	27,0	5,4
6	96	29,3	3,3	43,2	4,0	21,4	4,3	36,2	3,5	12,3	4,1	25,7	1,9

II. — G.P.T.

Dilutions de l'homogénat		1/200				1/500			
Temps d'incubation (min.)		30		60		30		60	
Nombre d'animaux	Temps en heures écoulé après l'intoxication	M	σ	M	σ	M	σ	M	σ
12	0	58,2	7,2	81,3	6,2	26,2	5,4	45,1	6,1
6	24	49,6	12,0	72,6	9,7	22,2	6,5	39,0	7,9
6	48	45,9	5,3	71,1	6,2	22,0	5,1	39,5	6,7
6	72	46,8	6,4	75,8	3,7	23,2	4,1	40,5	3,9
6	96	49,0	4,2	79,3	2,8	23,5	1,0	40,5	4,3

CHAPITRE VI

ACTIVITE LACTICODESHYDROGENASIQUE

Résultats : L'activité lacticodéshydrogénasique hépatique ne subit que de très faibles variations au cours du développement de l'hépatite expérimentale au nitrate d'uranyle : à la 24^e heure, se produit une hausse insignifiante, qui s'accroît à la 48^e heure, sans pour cela s'éloigner beaucoup de la normale. Dès la 72^e heure, cette activité diminue et est sensiblement revenue à la normale à la 96^e heure.

Ces résultats sont transcrits dans le tableau n° 13.

TABEAU N° 13

ACTIVITE LACTICO-DEHYDROGENASIQUE

Pourcentage de substrat métabolisé avec les surnageants d'homogénat de foie de Souris après intoxication au nitrate d'uranyle

Dilutions de l'homogénat		1/500				1/1000			
Temps d'incubation (min.)		15		30		15		30	
Nom- bre d'ani- maux	Temps en heures écoulé après l'in- toxication	M	σ	M	σ	M	σ	M	σ
10	0	60,3	3,9	76,3	4,5	38,4	6,2	55,6	6,6
10	24	62,8	8,0	79,3	8,5	42,4	7,7	58,3	10,8
10	48	66,1	12,8	82,2	9,5	50,5	9,2	64,5	8,7
10	72	62,5	4,6	79,4	8,0	41,3	4,6	57,7	6,9
10	96	61,1	4,0	80,0	4,2	41,0	3,8	58,3	4,4

A) *En ce qui concerne l'intoxication au tétrachlorure de carbone :*

I. — Nous constatons donc que sur les neuf activités enzymatiques que nous avons prospectées au niveau du foie, il y en a sept (activités transaminasiques G.O.T. et G.P.T., lacticodéshydrogénase, phosphatase acide, cholinestérase, ornithine-carbamyl-transférase, glutaminase II) qui, au cours de l'intoxication tétrachlorée, évoluent dans le même sens, c'est-à-dire diminution puis tendance ou retour plus ou moins complet à la normale et deux (activités phosphatase alcaline et 5-nucléotidase) qui évoluent en sens inverse, c'est-à-dire augmentation et retour à la normale. Toutefois dans l'une et l'autre catégorie, cette évolution se produit avec des caractères légèrement différents suivant qu'il s'agisse et de l'intensité des phénomènes et de leur évolution dans le temps. En ce qui concerne l'intensité du phénomène, quel que soit son sens, nos résultats peuvent se classer ainsi qu'il suit en % par rapport aux chiffres primitifs :

Phosphatase alcaline	+ 81,1 %
Glutaminase II	— 45,3
O.C.T.	— 41,7
Cholinestérase	— 35,9
5-Nucléotidase	+ 30,6
G.P.T.	— 19,5
Phosphatase acide	— 18,3
Lacticodéshydrogénase	— 13,8
G.O.T.	— 12,7

— En ce qui concerne les variations dans le temps, nous remarquons qu'elles se produisent dès la 24^e heure pour : G.O.T., G.P.T., lacticodéshydrogénase, phosphatase acide, cholinestérase, glutaminase II, phosphatase alcaline, 5-nucléotidase, et seulement à la 48^e heure pour l'ornithine-carbamyl-transférase.

— En ce qui concerne l'intervalle de temps nécessaire pour atteindre le maximum de variation, nous voyons qu'il est de 24 heures pour : G.O.T., G.P.T., lacticodéshydrogénase, phosphatase acide, cholinestérase, et de 48 heures pour : O.C.T., glutaminase II, phosphatase alcaline, 5-nucléotidase.

— En ce qui concerne l'intervalle de temps nécessaire pour que s'effectue le retour complet à la normale, nous constatons qu'il est de 96 heures pour la cholinestérase et d'une valeur supérieure pour les autres activités enzymatiques; seule la phosphatase acide continue à diminuer à la 96^e heure.

II. — Par rapport aux protéines totales appréciées par la méthode de KJELDAHL, nous pouvons dire que les variations de l'ornithine-carbamyl-transférase et des protéines, qu'on les considère sous l'angle de leur intensité ou de leur apparition dans le temps, nous semblent rigoureusement superposables; ce phénomène est à mettre en parallèle ou en opposition avec le fait que l'ornithine-carbamyl-transférase est pratiquement considérée comme une enzyme des plus spécifiques de la biologie hépatique, alors que les variations des autres enzymes paraissent plus indépendantes de celle des variations protéiniques, tout en évoluant dans le même sens, sauf dans le cas déjà cité de la phosphatase alcaline et de la 5-nucléotidase. Cette relative indépendance se trouve soulignée par le fait que si nous exprimons l'activité enzymatique de façon plus rigoureuse, suivant un mode d'expression qui tend de plus en plus à se généraliser à l'heure actuelle, en convertissant les pourcentages de substrat métabolisé par une dilution donnée de l'homogénat hépatique en μ moles de substrat métabolisé par 1 mg de protéines en un temps donné, nous obtenons pour l'ornithine-carbamyl-transférase :

Heures écoulées après l'intoxication	0	24	48	72	96
% de substrat métabolisé par 1 ml d'homogénat au 1/200 en 15 mn	44,8	45,3	26,1	32,2	30,1
μMoles de substrat métabolisé/mg de protéines en 15 mn ...	11,4	11,4	7,95	8,65	8,30

Nous voyons donc que même dans le cas de l'O.C.T. qui nous est le plus défavorable puisque c'est celui auquel correspond le parallélisme le plus étroit entre les modifications des protéines globales et celles des protéines enzymatiques, il existe cependant une différenciation suffisamment nette entre les deux séries, soit en % par rapport aux chiffres primitifs :

Heures écoulées après l'intoxication	24	48	72	96
O.C.T.	+ 0,26	— 30,0	— 23,9	— 27,0
Protéines	+ 0,50	— 16,8	— 5,60	— 8,10

En d'autres termes, la chute de l'activité enzymatique, quoique parallèle à celle des protéines, est cependant beaucoup plus accusée que celle-ci.

III. — Le phénomène le plus largement observé et qui correspond à une baisse des activités enzymatiques du foie, que nous avons dûment constatée, et qui s'accompagne selon toute vraisemblance d'une augmentation concomitante dans le sang (que d'autres auteurs ont retrouvée par ailleurs) nous indique que les hépatocytes lésés libèrent ces enzymes qui s'échappent dans le torrent circulatoire en même temps qu'une certaine quantité de protéines banales. Quant à l'A.R.N., il suit un sort pratiquement analogue, aux variations d'intensité et d'intervalle de temps près.

Tout se passe donc comme si les membranes cellulaires et intracellulaires étaient subitement devenues perméables aux protéines en général et plus spécialement aux protéines enzymatiques et si nous nous reportons aux travaux publiés dans la littérature et dont nous avons déjà fait mention, à d'autres substances intracellulaires telles que certains cations, potassium, magnésium, comme s'il existait une échelle de sensibilité telle qu'elles soient libérées selon un ordre préférentiel.

Si cet ordre préférentiel peut être admis entre les cations d'un côté et les protéines de l'autre, comme un certain nombre d'auteurs semblent déjà l'avoir admis à l'heure actuelle, est-il possible d'aller plus loin et d'interpréter sous cet angle nos propres résultats, dans le cadre des activités enzymatiques.

Cet ordre devrait être en relation essentiellement avec le tableau chronologique d'action du toxique sur les divers organites intracellulaires et les localisations enzymatiques intracellulaires. Nous savons en effet à l'heure actuelle que chaque enzyme occupe une place bien déterminée dans la cellule : ainsi les mitochondries sont caractérisées par la présence des enzymes d'oxydo-réduction, des enzymes du cycle de Krebs, des enzymes de désamination et de transamination; les lysosomes par celle de nombreuses hydrolases; les microsomes par celle des estérases, etc. La cohésion de ces enzymes à l'intérieur des organites serait

assurée par l'existence d'une paroi imperméable aux enzymes et d'un ciment liant les enzymes les unes aux autres grâce aux valences résistant aux agitations thermiques et aux autres forces capables de disloquer les molécules protéiques.

Qu'en est-il dans notre cas particulier ?

Les neuf enzymes que nous avons prospectées se trouvent, d'après l'opinion des auteurs, réparties ainsi qu'il suit :

— au niveau des mitochondries : G.O.T., G.P.T., glutaminase II, O.C.T.;

— au niveau des lysosomes : phosphatase acide;

— au niveau des microsomes : cholinestérase, phosphatase alcaline;

— dans le surnageant : lacticodéshydrogénase.

Quant à la 5-nucléotidase, elle semble répartie de façon beaucoup moins spécifique, puisqu'elle a été signalée à la fois dans les noyaux, les mitochondries, les microsomes et le surnageant.

Il semble donc difficile au vu de cette répartition intracellulaire de donner une explication valable du fait que certaines activités augmentent dans le même temps où d'autres diminuent. Tout au plus pourrions-nous signaler que les phosphatases acide et alcaline dont les taux se modifient en sens inverse ont une localisation réputée assez différente : les microsomes pour la phosphatase alcaline, les lysosomes pour la phosphatase acide.

Deux autres sortes de constatations pourraient encore être mises en avant :

a) A l'échelle intracellulaire, certaines enzymes telles que la xanthine-oxydase seraient engagées sous forme de cénapses lipoprotéiques dans le cytoplasme des cellules hépatiques et certains solvants tels que le tétrachlorure de carbone seraient capables de les détruire et de libérer l'enzyme (VILLELA et MITIDIERI).

b) Une constatation tout à fait différente, mais qui ne serait pas moins à prendre en considération, à savoir : la présence de la phosphatase alcaline a été signalée davantage au niveau des canalicules biliaires qu'au niveau du parenchyme proprement dit.

B) *En ce qui concerne l'intoxication au nitrate d'uranyle :*

I. — Nous constatons que, pour les six activités enzymatiques que nous avons prospectées au niveau du foie, il y en a quatre (activités phosphatasique alcaline, cholinestérasique, transaminasiques G.O.T., G.P.T.) qui, au cours de l'intoxication au nitrate d'uranyle, diminuent et deux (activités phosphatasique acide et lacticodéshydrogénasique) qui augmentent.

— En ce qui concerne l'intensité du phénomène, quel que soit son sens, nos résultats en p. 100 par rapport aux chiffres primitifs peuvent se classer ainsi qu'il suit :

Phosphatase alcaline	— 37,4 %
Phosphatase acide	+ 34,7
Cholinestérase	— 25,0
Transaminase G.P.T.	— 21,1
Lacticodéshydrogénase	+ 16,0
Transaminase G.O.T.	— 5,9

— En ce qui concerne les variations dans le temps, nous remarquons qu'elles se produisent dès la 24^e heure pour : G.P.T., lacticodéshydrogénase, phosphatases acide et alcaline, et seulement à la 48^e heure pour : G.O.T., cholinestérase.

— En ce qui concerne l'intervalle de temps nécessaire pour atteindre le maximum de variation, nous voyons qu'il est de 24 heures pour

la phosphatase alcaline et de 48 heures pour G.O.T. et G.P.T., lactico-déshydrogénase, phosphatase acide, cholinestérase.

— En ce qui concerne l'intervalle de temps nécessaire pour que s'effectue le retour à la normale, il est supérieur à 96 heures pour G.O.T. et G.P.T., lactico-déshydrogénase, phosphatase alcaline. Quant à la phosphatase acide, son activité diminue brusquement à la 72^e heure après avoir augmenté, et à la 96^e heure atteint des valeurs inférieures à la normale. Par contre, le taux de cholinestérase, après avoir été l'objet d'une baisse très nette, se trouve bien supérieur à la normale à la 96^e heure.

II. — Les protéines dosées par la méthode du Biuret sont affectées, dans nos conditions expérimentales, d'une très légère baisse à la 24^e heure suivie d'une augmentation progressive très nette maximum à la 96^e heure. Ces variations au bout de 24, 48, 72, 96 heures après l'injection du nitrate d'uranyle se traduisent ainsi, en % par rapport aux chiffres primitifs :

— 3,8 % ; + 5,0 % ; + 22,0 % ; + 33,9 %.

C) Comparaison de ces résultats :

Si nous essayons de comparer ces résultats avec ceux que nous avons mis précédemment en évidence dans le cas de l'intoxication tétrachlorée, nous constatons que dans l'ensemble les résultats paraissent moins réguliers avec le nitrate d'uranyle qu'avec le tétrachlorure de carbone.

Par ailleurs, nous trouvons deux différences considérables :

— Les listes des enzymes dont les taux augmentent ou diminuent dans l'un et l'autre cas ne sont pas superposables; en particulier si les sorts de la phosphatase acide et celui de l'alcaline sont à nouveau joints, les évolutions sont opposées puisque dans le cas du nitrate d'uranyle il s'agit de l'augmentation de la phosphatase acide et de la diminution de la phosphatase alcaline, à l'inverse de ce qui se produit dans le cas du tétrachlorure de carbone.

— L'augmentation des protéines hépatiques qui s'amorce dès la 48^e heure et qui atteint un taux relativement élevé nous paraît d'interprétation délicate et le moins que l'on puisse en dire, c'est que le mécanisme de l'action toxique exercée au niveau du foie par le nitrate d'uranyle est certainement différent de celui que nous nous sommes efforcé de décrire pour le tétrachlorure de carbone.

Faute d'éléments de comparaison que nous n'avons pas trouvés jusqu'à présent dans la littérature en ce qui concerne l'action hépatotoxique éventuelle du nitrate d'uranyle, le problème reste en suspens et d'autres expériences seront nécessaires pour l'élucider.

RESUME ET CONCLUSIONS GENERALES

I. — Le tétrachlorure de carbone, poison hépatotoxique par excellence, a fait l'objet d'un bon nombre de travaux, comme le montre l'importante bibliographie qu'il nous a été donné de réunir : les doses toxiques à employer, les lésions histologiques qu'il provoque ont été largement commentées. Par contre son mécanisme d'action a donné lieu à de nombreuses hypothèses que nous nous sommes efforcé de rappeler de façon coordonnée et les modifications biochimiques, notamment d'ordre enzymatique qu'il engendre, nous ont paru mériter d'être reprises de façon systématique dans un certain nombre de cas particuliers.

Après avoir injecté en une seule fois à des Souris blanches une solution de CCl_4 dans l'huile d'olive (soit 0,01 ml de CCl_4 par 20 g de poids corporel), on constate histologiquement que dès la 24^e heure des lésions hépatiques nettes (congestion, infiltration cellulaire...) s'étaient installées, qu'elles persistaient à la 48^e heure et faisaient place ensuite à la 72^e heure à une esquisse de régénération et à la 96^e heure à un retour à la normale quasi totale.

Quant aux activités enzymatiques du foie que nous avons étudiées, elles montrent, malgré quelques fluctuations d'amplitude différente, des variations nettes tout au cours de cette hépatite, et orientées presque toutes dans le même sens : les activités enzymatiques diminuent vers la 24^e-48^e heure après l'administration de CCl_4 , à savoir les activités transaminasiques G.O.T. et G.P.T., lacticodéshydrogénasique, phosphatase acide, cholinestérasique, ornithine-carbamyl-transférasique, glutaminasique II, sauf deux qui font exception et qui augmentent : ce sont l'activité phosphatasique alcaline et A.M.P.asique spécifique.

Pour donner une idée d'ensemble de ces variations nous nous sommes efforcé de dresser un tableau général pour lequel il n'aura été retenu pour chaque activité enzymatique que le résultat M correspondant à une seule dilution et un seul temps d'incubation, et exprimé en pourcentage de substrat métabolisé.

Nous avons observé d'autre part dans le foie une baisse du taux des protéines à la 48^e heure, de l'A.D.N. et de l'A.R.N. à la 24^e heure suivie d'une augmentation à la 96^e heure ; ces résultats exprimés en g pour 100 g de foie frais sont réunis avec les précédents dans le tableau n° 14.

TABLEAU N° 14
Intoxication au tétrachlorure de carbone

Enzymes	Dilu- tions	Temps d'incu- bation (min.)	Temps écoulé en heures après l'intoxication				
			0	24	48	72	96
Cholinestérase ...	1/20	15	42,3	27,1 [*]	30,8	41,6	42,4
Phosphatase acide	1/40	30	42,5	38,3	36,5	39,0	34,7
Phosphatase alcaline	1/20	30	31,3	44,2	55,7	56,7	43,8
A.M.P. ase spécifique	1/50	60	19,6	25,6	25,3	16,5	23,5
Glutaminase II ..	1/10	120	42,1	34,0	23,0	26,5	34,8
G.O.T.	1/100	30	31,6	27,6	28,3	28,3	
G.P.T.	1/100	30	67,7	54,5	55,7	64,3	
O.C.T.	1/200	15	44,8	45,3	26,1	32,2	30,1
Lactico-déshydrogénase	1/1000	30	50,7	39,8	50,5	53,6	56,8

Protéines (Kjeldahl)	19,7	19,8	16,4	18,6	18,1
Acide désoxyribonucléique (A.D.N.) .	0,478	0,448	0,525	0,554	0,592
Acide ribonucléique (A.R.N.)	1,36	1,03	1,11	1,55	1,53

II. — Le nitrate d'uranyle (à la dose de 1 ml d'une solution aqueuse à 400 mg/l par 20 g de poids corporel) provoque des lésions hépatiques toxiques, légères, maxima le 3^e jour après l'injection. Au cours de cette intoxication nous avons noté à la 24^e-48^e heure une augmentation du taux des protéines, de la phosphatase acide, de la lactico-déshydrogénase, une diminution nette de celui de la phosphatase alcaline, de la cholinestérase, de la transaminase glutamique pyruvique et une baisse très faible de la transaminase glutamique oxalo-acétique. Il se produit toutefois une diminution secondaire de la phosphatase acide et une augmentation secondaire de la cholinestérase à la 96^e heure. Ces résultats sont réunis dans le tableau n° 15.

TABLEAU N° 15
Intoxication au nitrate d'uranyle

Enzymes	Dilutions	Temps d'incubation (min.)	Temps écoulé en heures après l'intoxication				
			0	24	48	72	96
Cholinestérase ...	1/20	15	42,0	42,5	31,5	36,5	50,5
Phosphatase acide	1/40	30	42,5	45,0	57,3	34,0	37,8
Phosphatase alcaline	1/20	30	31,3	14,6	19,6	27,0	23,1
G.O.T.	1/100	30	28,7	28,6	27,0	28,5	29,3
G.P.T.	1/200	30	58,2	49,6	45,9	46,8	49,0
Lactico-déshydrogénase	1/1000	30	55,6	58,3	64,5	57,7	58,3

Protéines biurétiques (en g pour 100 g de foie frais)	15,9	15,3	16,7	19,4	21,3
---	------	------	------	------	------

III. — Un essai d'interprétation est proposé tout au moins dans le cas de l'intoxication au CCl_4 en s'efforçant d'établir une relation entre les variations du taux d'enzymes constatées et les modifications des organites intracellulaires signalées par les auteurs.

Vu,
Le 12 mai 1967
Le Président du Jury :
G. DASTUGUE.

Vu,
Le 13 mai 1967
*Le Doyen de la Faculté Mixte de Médecine
et de Pharmacie :*
G. MEYNIEL.

Vu et permis d'imprimer n° 20/67
Clermont-Ferrand, le 19 mai 1967
*Le Recteur de l'Académie,
Président du Conseil de l'Université :*
E. LAPALUS.

BIBLIOGRAPHIE

1. ABABEI L., BADESCU A. — *Stud. Cerc. Fiziol. Romin.*, 1962, 7, n° 2, 263-268.
2. ABABEI L., CAPALNA S., STEFANESCU U.P. — *Nature, Lond.*, 1962, 194, 983-984.
3. ABBOTT L.D., EAST M.K. — *Fed. Proc.*, 1949, 8, 178.
4. ADAMS D.H., ROE F.J.C. — *Brit. J. Cancer*, 1953, 7, 509-518.
5. AFFONSO O.R., MITIDIERI E., RIBEIRO L.P., VILLELA G.C. — *Proc. Soc. For. Exp. Biol. and Med.*, 1955, 90, 527-529.
6. AIYAR A.S., SREENIVASAN A. — *Biochem. J.*, 1962, 82, n° 1, 179-182.
7. AIZAWA S. — *Acta Pathol. Jap.*, 1962, 12, n° 2, 155-176.
8. ALEMAN ALEMAN V., GITLER C. — *Arch. Biochem. biophys.*, 1962, 96, 77-83.
9. ALIBERT A., RIGAL M.Th., BASTIDE P., TURCHINI J.P., DASTUGUE G. — *C. R. Soc. Biol.*, 1963, 157, n° 7, 1439.
10. ALIBERT A., RIGAL M.Th., BASTIDE P., TURCHINI J.P., DASTUGUE G., MALET P. — *J. Physiol.*, 1964, 56, 526-527.
11. ALIBERT A., RIGAL M.Th., MALET P., BASTIDE P., TURCHINI J.P., DASTUGUE G. — *Ann. Biol. Clin.*, 1964, 10-12, 1075-1081.
12. ANDREWS H.W.H., MAEGRAITH B.G. — *Ann. Trop. Med. and Parasit.*, 1948, 42, n° 1, 95-100.
13. ARTIZZU M. — *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.*, 1963, 39, n° 9, 545-548.
14. ARTIZZU M., DIANZANI M.U. — *Biochim. Biophys. Acta.*, 1962, 63, 453-464.
15. ARTIZZU M., BACCINO F.M., DIAZANI M.U. — *Biochim. Biophys. Acta.*, 1963, 78, 1-11.
16. ARVY L. — *Rev. Franç. Etud. Clin. et Biol.*, 1959, 4, 275-280.
17. ASADA M. — *Med. J. Osaka univ.*, 1958, 9, 45-55.
18. ASADA M., GALAMBOS J.T. — *Gastroenterology*, 1963, 44, 578-587.
19. ATERMAN K. — *A.M.A. Arch. Pat.*, 1954, 57, 1-11.
20. ATERMAN K. — *Brit. J. Pharmacol. Chemotherapy*, 1962, 19, 219-225.
21. ATERMAN K., AHMAD N.D. — *Lancet i*, 1953, 71-73.
22. AUGUSTINSSON K.B., GRANT C.A., OLSSON B., THAFUELIN B. — *Zentralblatt für veterinarmedizini*, 1960, VII, 8, 729-744.
23. AUZERY Ph., BOIVIN P., FAUVERT R. — *Rev. Int. Hepat.*, 1960, 10, 483-580.
24. AWAPARA J., SEALE B. — *J. Biol. Chem.*, 1952, 194, 497.
25. BALAZS T., MURRAY T.K., Mc LAUGHLAN J.M., GRICE H.C. — *Toxicol. and applied Pharmacol.*, 1961, 3, 71-79.
26. BALLAN P., DEMANGE G., MORETTI G.F., STAEFFEN J. — *Press. Med.*, 1959, 61, 2353-2354.
27. BARTOK I., DOMJAN G., HORVATH E., KORPASSY B. — *Nature, Lond.*, 1960, 186, 397.
28. BARTOK I., HORVATH E., POCSAI J., KORPASSY B. — *Pathol. Microbiol.*, 1963, 26, (4), 415-426.
29. BARTOK I., TOSZEGI A., POKORNY L. — *Z. Ges. Exp. Med.*, 1964, 138, 51-56.
30. BASILIO C., PARAJOUX V., CABELLO I. — *Acta Physiol. Latino Am.*, 1960, 10, 159-167.
31. BASSI M. — *Exp. Cell. Res.*, 1960, 20, 313.

32. BASTIDE J. — Thèse Doct. Univ. Pharm. Clermont (à paraître).
33. BASTIDE P., BAUDON J., DASTUGUE G., REBIÈRE J.P. — *Ann. Biol. Clin.*, 1960, 5-6, 307.
34. BASTIDE P., BAUDON J., MEUNIER S., DASTUGUE G. — *Ann. Biol., Clin.*, 1963, 21, 255.
35. BASTIDE P., RIGAL M.Th., BASTIDE J., TURCHINI J.P., DASTUGUE G. — *J. Physiol.*, 1965, 57, 219-220.
36. BASTIDE P., RIGAL M.Th., DASTUGUE G. — *J. Physiol.*, 1966, 58, n° 2, 202.
37. BAUR H. — *Vit. Horm. Fermentforsch.*, 1948-1949, 2, 507.
38. BAZIN S., DELAUNAY A. — *Ann. Inst. Pasteur*, 1964, 106, n° 4, 543-552.
39. BEATON J.R. — *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1954, 87, 238.
40. BEAUFAY H., VAN CAMPENHOUT E., DE DUVE C. — *Biochem. J.*, 1959, 73, 617-623.
41. BENEKE G., SIMON H. — *Verhaudl. Deut. Ges. Pathol.*, 1961, 45, 284-286.
42. BENGMARK S., OLSSON R. — *Lab. Invest.*, 1962, 11, 235-239.
43. BENGMARK S., OLSSON R. — *J. Endocrinol.*, 1962, 25, 293-297.
44. BENGMARK S., OLSSON R. — *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1962, 109, n° 2, 258-260.
45. BERGAMINI A., BENDANDI A., CHIEREGO G., MAGGI G. — *Minerva Med.*, 1955, 2, 1863-1864.
46. BERGER L., BROIDA D. — *Sigma tech. Bull.*, 1958, 500, 165.
47. BERNHEIM M.L.C. — *Biochem. Pharmacol.*, 1961, 7, n° 1, 59-64.
48. BESSEY O.A., LOWRY O.H., BROCK M.S. — *J. Biol. Chem.*, 1946, 164, 321.
49. BLACKLEY R.L. — *Biochem. J.*, 1951, 49, 257.
50. BLUGERS A., SHUSTER Y.Y., SHURMIN F. — *Materialy Peroo Soveshch. po Aktual'nyy Vopr. Klinich. Biokhim. Rzhsk. Med. Inst.*, 1962, 85-90.
51. BLUME E., BORNIG H., FRUNDER H., THIELER H., THIELMANN K. — *Z. Hoppe Seylers Physiol. Chem.*, 1962, 328, n°s 3-6, 145-163.
52. BLUME E., KLUGE H., FRUNDER H. — *Acta Biol. Med. German*, 1962, 9, n° 6, 566-575.
53. BOERNIG H., HORN A., MUECKE V. — *Acta Biol. Med. German*, 1962, 9, 623-631.
54. BOIVIN P., AUZERY Ph., FAUVERT R. — *Ann. Biol. Clin.*, 1961, 10-12, 794-821.
55. BOIVIN P., AUZERY Ph. — *Rev. Prat.*, 1962, 12, n° 8, 857-875.
56. BOLINGER R.E., SLINKER B.J. — *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1955, 88, 574-576.
57. BONNISCHEN R.K., BRINK N.G. — *Methods in Enzymol. Acad. Press. N. Y.*, 1955, 1, 495.
58. BRAUER R.W., ROOT M.A. — *J. Pharmacol. and Exp. Therap.*, 1946, 88, 109-118.
59. BRAUER R.W., ROOT M.A. — *Fed. Proc.*, 1946, 5, n° 1, 168.
60. BRODY T.M. — *Fed. Proc.*, 1959, 18, 101-103.
61. BRODY T.M. — *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1963, 104, n° 3, 1065-1073.
62. BRODY T.M., CALVERT D.N. — *Amer. J. Physiol.*, 1960, 198, 669-676 et 682-685.
63. BROWN R.W., GRISOLIA S. — *J. Lab. Clin. Med.*, 1959, 54, 617-620.
64. BROWN L.M., HARRISON M.F. — *Nature, Lond.*, 1951, 168, 83.
65. BRUNS F.H., JACOB W. — *Klin. Wschr.*, 1954, 32, 1041-1044.
66. BRUNS F., NEWHAUS J. — *Arch. Biochem. and Biophys.*, 1955, 55, 588-591.
67. BRUNS F.H., NEWHAUS J. — *Biochem. Z.*, 1955, 326, 242-251.
68. BRUNS F., PULS W. — *Klin. Wschr.*, 1954, 32, 656-659.
69. BRUNS F.H., WOLLENWEBER J. — *Klin. Wschr.*, 1962, 40 (1), 995-1002.
70. BUCK W.B., JAMES L.F., BINNS W. — *Cornell. Vet.*, 1961, 51, 568-585.

71. BURUIANA L.M., HADARAG E., SUTEANU M., LOZINSCHI A., DIACONESCU C., DEMA A. — *Lucr. Sti. Inst. Agrar. « N. Babescu »*, Ser. C, Romîn., 1960, 4, 241-249.
72. BUTLER T.C. — *J. Pharmacol. and exper. therapeutics*, 1961, 134, 311-319.
73. CABAUD P.G., WROBLEWSKI F. — *Am. J. Clin. Path.*, 1958, 30, 234.
74. CAIRELLA M., URBIMATI G.C. — *Epatologia*, 1959, 5, 34-44.
75. CALVERT D.N. — *Dissert. Abstr. U.S.A.*, 1961, 21, n° 8, 2321-2322.
76. CALVERT D.N., BRODY T.M. — *J. Pharmacol. Exptl. Therap.*, 1958, 124, 273-281.
77. CALVERT D.N., BRODY T.M. — *Fed. Proc.*, 1959, 18, 375.
78. CALVERT D.N., BRODY T.M. — *Amer. J. Physiol.*, 1960, 198, 669-676.
79. CALVERT D.N., BRODY T.M. — *J. Pharmacol. Exptl. Therap.*, 1961, 134, 304-310.
80. CAMERON R. — *Med. J. Australia*, 1963, II, n° 9, 341-347.
81. CAMERON R. — Cité par MIKOL Cl. dans *Press Med.*, 1964, 72, n° 28, 1692-1693.
82. CAMERON G.R., KARUNARATNE N.A.E. — *J. Path. and Bact.*, 1936, 42, 1, 1-21.
83. CAMPBELL D.M. — *Biochem. J.*, 1962, 82, n° 2, 34.
84. CAPILNA S., ABABEI L., STEFANESCU P. — *Stud. Cerc. Fiziol. Romîn.*, 1962, 7, 479-484.
85. CARACRISTI R., DE SAINT-PIERRE G. — *Arch. Studio Fisiopatol. Clin. Ricambio*, 1960, 24, 98-109.
86. CARTIER P., LEROUX J.P. — *C. R. Soc. Biol.*, 1964, 158, n° 2, 239-242 et 281-283.
87. CARTIER P., LEROUX J.P. — *C. R. Soc. Biol.*, 1964, 158, n° 10, 1837-1841.
88. CARTIER P., LEROUX J.P. — *Rev. Franç. Et. Clin. Biol.*, 1966, XI, 169-175 et 248-255.
89. CECCALDI P.F., HEBERT S., BIEZ-CHARRETTON J. — *Sem. Hôp. Paris*, 1956, 32, (11), 847-853.
90. CHIDA N. — *Tohoku J. Exptl. Med.*, 1963, 79, (3), 267-273.
91. CHOJECKI Z., KERN F. — *Pol. Arch. Med. Wewn.*, 1961, 31, 147-160.
92. CHOJECKI Z., KERN F. — *Gastroenterology*, 1961, 40, 521-531.
93. CHRISTIE G.S., JUDAH J.D. — *Proc. Roy. Soc.*, 1953, B 141, 420-433.
94. CHRISTIE G.S., JUDAH J.D. — *Proc. Roy. Soc.*, 1954, B 142, 241-257.
95. CICHINI T. — *Rass. Ital. Gastro-enterol.*, 1963, 9, (5), 263-268.
96. CIOCCI A. — *Rass. Fisiopat. Clin. Ter.*, 1959, 31, 944-954.
97. CLIFF J.M. — *J. Roy. Nav. Med. Serv.*, 1963, 49, 47-53.
98. COCEANI I., DAGNINI G., NARDINI A. — *Arch. Pat. Clin. Med.*, 1963, 40, 238-251.
99. COLTORTI M., GIUSTI G. — *Bioch. Appl.*, 1956, 3, 215.
100. COLTORTI M., GIUSTI G. — *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.*, 1956, 32, 1, 384-385.
101. COLTORTI M., GIUSTI G. — *Rass. Med. Sperim.*, 1956, 3, 9-10.
102. COLTORTI M., GIUSTI G. — *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.*, 1958, 34, 964-967.
103. COLTORTI M., ALTUCCI P., DI SIMONE A., LORENZUTTI G., SAPIO U. — *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.*, 1960, 36, 1442.
104. CORNELIUS E. — *Cornell Vet.*, 1961, 51, 559-568.
105. CORNELIUS C.E., DOUGLAS G.M., GRONWALL R.R., FRIEDLAND R.A. — *Cornell Vet.*, 1963, 53, 181-190.
106. CORNISH H.H. — *Industr. Med. Surg. U.S.A.*, 1961, 30, 344-345.
107. CORNISH H.H. — *Toxicol. Appl. Pharmacol. U.S.A.*, 1962, 4, 468-474.
108. CORNISH H.H., BLOCK W.D. — *Arch. Industr. Health. U.S.A.*, 1960, 21, n° 6, 549-554.
109. CORNISH H.H., BLOCK W.D. — *Arch. Environmental Health.*, 1960, 1, 96-100.

110. CORNISH HH., DAMBRAUSKAS T. — *Industr. Med. Surg. U.S.A.*, 1961, n° 8, 30, 323-326.
111. CRAVEN R.E. — *Marquette Med. Rev.*, 1960, 25, 84-87.
112. CRISTOL P., MACABIES J., AYAVOU T. — *C. R. Soc. Biol.*, 1964, 158, n° 8-9, 1703-1704.
113. DANISHEUSKI S.L. — *Trudy Leningrad. Saint-Gigien. Med. Inst.*, 1958, 44, 155-163.
114. DARNIS F., DUBRISAY I. — *Les cirrhoses du foie*, Doin et Cie, éd., Paris.
115. DASTUGUE G., BALLADE C., BASTIDE P. — *C. R. Soc. Biol.*, 1963, 157, 540.
116. DASTUGUE G., BASTIDE P., PLAT P.M. — *Ann. Biol. Clin.*, 1964, 22, 227-324.
117. DASTUGUE G., BASTIDE P., PLAT P.M., LAPORTE J. — *C. R. Soc. Biol.*, 1964, 158, n° 7, 1517.
118. DASTUGUE G., BAUDON J., BASTIDE P., CARCASSIN M. — *Ann. Biol. Clin.*, 1959, 7-9, 435.
119. DASTUGUE G., JACQUEMET L., BASTIDE P., SIMON E., PLAT P.M. — VIII^{me} Congrès Soc. Europ. Hématol. Vienne (28 août - 2 sept. 1961), Basel, Karger éd, 1962.
120. DAWBORN J.K., RALSTON M., WEIDEN S. — *Brid. Med. J.*, 1961, 5250, 493-494.
121. DAWKINS M.J.R. — *J. Path. Bact.*, 1963, 85, 189-195.
122. DECKEN A. VON DER HULTIN T. — *Exptl. Cell. Research*, N. Y., 1960, 19, 591-604.
123. DECSI L., MEHES J., VARGA F. — *Arch. Exper. Path. u. Pharmacol.*, 1957, 231, 235-245.
124. DEMANGE G., BALLAN P., MORETTI G.F., STAEFFEN J., CATANZANO G., LAFaix J.M. — *Press. Med.*, 1962, 70, n° 21, 1032-1034.
125. DERVILLE P. — *J. Méd. Bordeaux*, 1936, 4, 91.
126. DIANZANI M.U. — *Giorn. Biochim.*, 1954, 3, 29-47.
127. DIANZANI M.U. — *Biochem. Biophys. Acta*, 1954, 14, 513-531.
128. DIANZANI M.U. — *Biochem. Biophys. Acta*, 1955, 17, 391-405.
129. DIANZANI M.U., VITI I. — *Biochem. J.*, 1955, 59, 141-145.
130. DINMAN B.D., FOX C.F., FRAJOLA W.J. — *Arch. Environmental Health*, 1962, 4, 168-182.
131. DINMAN B.D., HAMDI E.A., FOX C.F., FRAJOLA W.J. — *Arch. Environmental Health*, 1963, 7, 630-646.
132. DISCHE Z. in CHARGAFF S. et DAVIDSON J.N. — *The Nucleic Acids*, Academic Press, N. Y., 1955, vol I, 285-305.
133. DIXON Th F., PURDOM M. — *J. Clin. Path.*, 1954, 7, 341-343.
134. DOBIS J., VIDO I., NIEDERLAND T.R. — *Cesk. Gastroent. Vyz.*, 1961, 15, 255-257.
135. DODEL P., DASTUGUE G. — *Bull. Sci. Pharmacol.*, 1936, 43, 93-101.
136. DODGSON K.S., SPENCER B., THOMAS J. — *Biochem. J.*, 1955, 59, 29.
137. DRILL V.A. — *Pharmacol. Rev.*, 1952, 4, 1-42.
138. DRILL V.A. — *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1963, 104, (3).
139. DRILL V.A., IVY A.C. — *J. Clin. Invest.*, 1944, 23, 209.
140. DUBRISAY I., DARNIS F. — *Path. Biol.*, 1959, 7, 1571-1587.
141. DUCHÈNE-MARULLAZ P., LAGUILLAUMIE B., TALVARD J., CONSTANTIN M. — *C. R. Soc. Biol.*, 1965, 159, (10), 1977-1979.
142. DUVE C. DE. — *Les lysosomes. Exposés annuels de biochimie médicale*, Masson Ed., Paris, 1958, 197-221.
143. DUVE C., BEAUFAY H., JACQUES P., RAHMAN-LI Y., SELLINGER O.Z., WATTIAUX R., CONINCK S. DE. — *Biochim. Biophys. Acta*, 1960, 40, 186-187.
144. DUVE C. DE, PRESSMAN B.C., GLANETTO R., WATTIAUX R., APPELMANS F. — *Biochem. J.*, 1955, 60, 604-617.
145. DUVE C. DE, WATTIAUX R., WIBO M. — *Biochem. Pharmacol.*, 1961, 8, 30.
146. DVORACKOVA I. — *Arch. Toxik.*, 1963, 20, 72-78.

147. EDWARDS J.E., DALTON A.J. — *J. Nat. Cancer Inst.*, 1942, 3, 19.
148. EGER W. — *Virchow's Arch. Path. Anat. u Physiol.*, 1954, 325, 648-656.
149. EGER W., KURTH V. — *Acta histochem.*, 1958, 6, 8-16.
150. EICKSTEDT K.N. — *Arch. Exptl. Pathol. Pharmacol.*, 1960, 238, 54-55.
151. ESCHENBRENNER A.B., MILLER E. — *J. Nat. Cancer Inst.*, 1946, 6, 325-341.
152. FABRE R., TRUHAUT R., LAHAM S. — *Proc. N. Y. U. S. Execut. Commit. 13th Intern. Congr. Occupation Hlth*, 1961, 682-692.
153. FENNELLY J., FRANCK O., BAKER H., LEEVY C.M. — *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1964, 116, n° 4, 875-877.
154. FERRARI V. — *Arch. Sc. Med.*, 1955, 100, 376-385.
- 154 bis. FIGUEROA R.B., KLOTZ A.B. — *Metab. Clin. Exptl.*, 1962, 11, 1169-1180.
155. FISCHER A., PERENYL L., ROHNY S. — *Acta Med. Hung.*, 1958, XII, (3-4), 229-237.
156. FISKE CH., SUBRA-ROW Y. — *J. Biol. Chem.*, 1925, 66, 325.
157. FLEISHER G.A., BUTT H.R. — *J. Clin. Invest.*, 1953, 32, 674-680.
158. FLEISHER G.A., BUTT H.R., HUIZENGA K.A. — *Proc. Staff. Meet. Clin.*, 1957, 32, 410-424.
159. FLEISHER G.A., WAKIM K.G. — *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 1961, 106, 283-286.
160. FLEISHER G.A., WAKIM K.G. — *Proc. Mayo Clin.*, 1956, 31, 640.
161. FLEURY P., EBERHARD R. — *Ann. Biol. Clin.*, 1961, 9, 453.
162. FLORES G., ROSADO A., TORRES J., SOBERON G. — *Amer. J. Physiol.*, 1962, 203, 43-48.
163. FORD E.J.H., LAWRENCE J.A. — *J. Comp. Pathol. Therap.*, 1965, 75, (2), 185-200.
164. FOURCADE A., ROSENBERG A.J. — *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1962, 44, (5-6), 471-476.
165. FOX C.F., DINMAN B.A., FRAJOLA W.J. — *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 1962, III, 731-734.
166. FRANKL H.D., GAERTNER P.L., KOSSUTH L.C., MILCH L.J. — *Texas Repts. Biol. and Med.*, 1957, 15, 868-873.
167. FRANKL H.D., MERRITT I.H. — *Gastroenterology*, 1960, 38, 121.
168. FRIEDE R.L. — *J. Path. Bact.*, 1960, 79, 109-112.
169. FRIEDMAN R., EALES L. — *S. Afr. Med. J.*, 1962, 36, 1067-1071.
170. FRIEND C., WROBLEWSKI F., LA DUE J.S. — *J. Exper. Med.*, 1955, 102, 699.
171. FRUNDER H., BLUME E., THIELMANN K., BORNIC H. — *Z. (Hoppe Seyler's) Physiol. Chem.*, 1961, 325, (3-4-5-6), 146-163.
172. FRUNDER H., FISCHER W., BORNIC H. — *Z. Physiol. Chem.*, 1956, 306, 112-119.
173. GALLACHER C.H., JUDAH J.D., REESCK K.R. — *J. Path. Bact.*, 1956, 72, 1, 246-256.
174. GALLACHER C.H., GUPTA D.N., JUDAH J.D., REES K.R. — *J. Path. Bact.*, 1956, 72, (1), 193-201.
175. GALLACHER C.H., REES K.R. — *Nature*, (Lond.), 1960, 187, 148-149.
176. GAL'PERIN E.I. — *Eksp. Khir.*, 1960, 5, 46-49.
177. GARDNER G.H., GROVE R.C., GUSTAFSON R.K., MAINE E.D., THOMPSON M.J., WELLS H.S., LAMSON P.D. — *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, 1925, 36, 107-133.
178. GARKAVI P.G. — *Farmacol. i. Toksikol. S. S. S. R.*, 1961, 24, (5), 599-604.
179. GAVOSTO F. — *Rec. Progr. Med.*, 1956, 21, 337.
180. GERMANYUK Ya.L. — *Ukrain. Biokhim. Zhur.*, 1961, 33, 374-377.
181. GHIRCOIASIU M., PORA E.A., ROVENTA E., GHIRCOIASIU T. — *Studii Cercetari Biol., Ser. Zool.*, 1964, 16, n° 6, 493-499.
182. GINOULHIAC E., TENCONI L.T. — *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.*, 1955, 31, 1351-1354.

183. GIUSTI G., COLTORTI M. — *Biochim. Appl.*, 1957, IV, (4), 188.
184. GIUSTI G., COLTORTI M., SIMONE A. DI. — *Biochem. Applic.*, 1956, 3, 49-54.
185. GLASSON B., BENAKIS A. — *Helv. Physiol. Acta*, 1962, 20, 227.
186. GLYNN L.E., HIMSWORTH H.P. — *Clin. Sci.*, 1948, 6, 235.
187. GOETZE T., GOETZE E. — *Acta Biol. Med. Ger.*, 1961, 7, 476-485.
188. GOKHALE S.D., KELKAR V.V., GULATI O.D. — *Arch. Internation. Pharmacodyn. Therap. Belg.*, 1963, 144, 423-431.
189. GOLDBERGI M., MAKHOUSKII A.I. — *Lietuvos TSR. Mokshu Akad. Darbai. Ser. C*, 1964, 1, 149-154.
190. GOLDBERGIENE M., KUBLICKIENE O., MALACHOV, SKIS A. — *Lietuvos TSR. Mokshu Akad. Darbai. Ser. C*, 1964, 3, 121, 129.
191. GREBENNIKOVA A.E. — *Bjull. Eksper. Biol. Med. S.S.S.R.*, 1962, 53, n° 4, 67-69.
192. GREBENNIKOVA A.E. — *Materialy 2-go (Vtorogo) Soveshch. po Klinich. Biokhim. Infekts. Boleznei i Simpoziuma po Klinich. Biokhim. Boleznei Pecheni, Riga, Sb.*, 1963, 139-140.
193. GREENSTEIN J.P. — *J. Nat. Cancer Institute*, 1941-1942, 2, 17-21.
194. GRIFFITHS D.B., REES K.R., SINHA K.P. — *J. Path. Bact.*, 1961, 82, 19-115.
195. GROSSI E.G. — *Proc. Soc. Exp. Biol. N. Y.*, 1942, 51, 61.
196. GROSSI E., MAFFEI-FACCIOLI A., VERTUA R. — *Atti. Accad. Med. Lombarda*, 1962, 17, 153-155.
197. GULATI O.D., GOKHALE S.D., SAYED B.A., JOSEPH A.D. — *Arch. Int. Pharmacodyn.*, 1962, 138, 412-419.
198. GYORGY P., SEIFFER J., TOMARELLI R., GOLDBLATT H. — *J. Exp. Med.*, 1946, 83, 449-461.
- 198 bis. — HALEVY S., EISEN A., GUGGENHEIM K. — *Bull. Research council, Israël*, 1958, 7 E, 175-181.
199. HALL M.C., SHILLINGER J.E. — *J. Agr. Research.*, 1923, 23, 163-191.
200. HARTL O., MUELLNER T., NEUMAYR A., PIETSCHMANN H. — *Wein. Z. Inn. Med. Grenz.*, 1962, 43, 416-420.
201. HARTROFT W.S. — *In Diseases of the liver*, Lippincott Edit., Philadelphia, 1956, Chapitre 4, 92-125.
202. HAUSS W.H., LEPPELMAN H.J. — *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1958, 75, 250-259.
203. HEBERT S., ROUX J.M., DEMAY A. — *Ann. Histochim.*, 1957, 2, n° 3, 181-186.
204. HEBOYAN M., MESSERI E. — *Rass. Ital. Gastro-enterol.*, 1963, 9, n° 2, 92-97.
205. HEIM F., LEUSCHNER F., OTT A. — *Arch. Exper. Path. u Pharmacol.*, 1956, 229, 360-365.
206. HEIMBERG M., WATKINS M.L., TOOKER R. — *J. Pharmacol. Exptl. Therap.*, 1964, 145, 92-101.
207. HEIMBERG M., WEINSTEIN I. — *Biochem. Pharmacol. G. B.*, 1962, 2, 163-165.
208. HEIMBERG M., WEINSTEIN I., DISHMON G., DUNKERLEY A. — *J. Biol. Chem.*, 1962, 237, 3623-3627.
209. HIMSWORTH H.P. — *The Liver and its diseases*, Cambridge Mass. Harvard Ed., 1950, 2.
210. HIRAYAMA C., NAGAMINE M., KUME T., KOGA S. — *Saishin Igaku*, 1962, 17, 2520-2525.
211. HOENIG V., HOENIG J. — *Sb. Lekar.*, 1964, 66, 8-9 et 272-275.
212. HOFFMAN M.D., HIMES M.B., LAPAN S.B.A., POST J. — *Arch. Path.*, 1955, 60, 10-18.
213. HOFFMAN-OSTENHOF O. — *Advances in Enzymology*, 1953, 14, 219.
214. HOGEBOOM G.H., CLAUDE A., HOTCHKISS R.D. — *J. Biol. Chem.*, 1946, 165, 615-629.
215. HOGEBOOM G.H., SCHNEIDER W.C. — *J. Biol. Chem.*, 1950, 186, 417.
216. HORIMOTO A. — *Nara Igaku Zasshi*, 1962, 13, 52-57.

217. HORNING M.G., EALE M.J., MALING H.M. — *Biochem. Biophys. Acta*, 1962, 56, 175-177.
218. HOSHI M. — *Med. J. Osaka Univ.*, 1963, 14, n° 1, 35-45.
219. HOVE E.L., HARDIN J.V. — *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 1951, 78, 858-861.
220. HRUZA Z., SMETANA R. — *Physiol. Bohemosloven*, 1957, 6, 533-538.
221. HRUZEK H., LANGER J. — *Bratislav, Lekarske Listy*, 1960, 40, (2), 548-554.
222. IGAKI A. — *Jap. Arch. Intern. Med.*, 1964, 11, 1-7.
223. D'IOIO A., LEDUC J. — *Arch. Biochem. Biophys.*, 1960, 87, 224-227.
224. ISSELBACKER K.J., MC CARTHY E.A. — *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1960, 103, 819-822.
225. ISSELBACKER K.J., JONES W.A. — *Gastro-enterology*, 1964, 46, 424-433.
226. JACOBZINER H., RAYBIN H.W. — *N. Y. State J. Med.*, 1962, 62, (18), 2991-2992.
227. JACOBZINER H., RAYBIN H.W. — *N. Y. State J. Med.*, 1964, 64, (2), 307-308.
228. JENNINGS R.B. — *Arch. Path.*, 1955, 59, 269.
229. JOBLING J.N., EGGSTEIN A.A., PETERSEN N. — *J. Exper. Med.*, 1915, 22, 707-712.
230. JUDAH J.D. — *Nature*, Lond., 1960, 185, 390-391.
231. JUDAH J.D., AHMED K., MC LEAN A.E. — *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1963, 104 (3).
232. JUDAH J.D., REES K.R. — *Biochem. J.*, 1957, 65, 45 p.
233. JUDAH J.D., REES K.R. — *Fed. Proc.*, 1959, 18, 1013-1020.
234. JUDAH J.D., SPECTOR W.G. — *Brit. Med. Bull.*, 1954, 10, 42-46.
235. KASYMOV Kh.K. — *Izvest. Akad. Nauk Tadzhik. S.S.R., Otdel Sel's Hokhoz. i. Biol. Nauk*, 1961, n° 1, 133-140.
236. KATO N., MURAKAMI S. — *J. Vitaminol.*, 1959, 5, 217-222.
237. KATO N., MURAKAMI S. — *J. Lab. Clin. Med.*, 1959, 54, 365-380.
238. KENNEDY E.P. — *Amer. J. Clin. Nutr.*, 1958, 6, 216.
239. KENT G., VOLINI F.I., ORFEI I., MINICK O.T., DE LA HUERGA J. — *Lab. Invest.*, 1963, 12, 1094-1101.
240. KERPOLA W., NIKKILA E.A., PITKANEN E. — *Acta Med. Scand.*, 1959, 164, 357-367.
241. KERN F., SANDERS B.B. — *Annual Meeting, Chicago*, 1960, III, Nov. 3.
242. KIESSLING H., TILANDER K. — *Acta Chem. Scand.*, 1960, 14, 841-845.
243. KIM E.S. — *Korean Central J. Med.*, 1964, 7, (4), 428-431.
244. KLEIN V.E. — *Naturwissenschaften*, 1963, 50, n° 21, 670.
245. KLINGER W., KERSTEN L. — *Acta Biol. Med. Germ.*, 1960, 5, 364-367.
246. KNAUFF H.G., WINDSHEIMER F. — *Arch. Exp. Path. u. Pharmacol.*, 1960, 239, 442-463.
247. KOCH-WESER D., FARBER E., SZANTO P.B., POPPER H. — *Fed. Proc.*, 1950, 2, (1), 336.
248. KOKAWA I. — *Shikoku Igaku Zasshi*, 1963, 19, 48-52.
249. KOKOT F., KUSKA J. — *Polskii Arch. Med. Wewnetr.*, 1964, 34, 427-434.
250. KONISHI H. — *Okayama Igakkai Zasshi*, 1959, 71, 1865-1896.
251. KRETCHMER N., BARNUM C.P. — *Canc. Res.*, 1949, 9, 564.
252. KULKA R.G., DUKSIN D. — *Biochim. Biophys. Acta*, 1964, 91, n° 3, 506-514.
253. KUMATE J. — *Gac. Med. Mex.*, 1957, 87, 511-522.
254. KUMATE J. — *Gac. Med. Mex.*, 1959, 89, n° 9, 769-790.
255. KUMATE J., BENAVIDES L., FLORES M.A. — *Bol. Med. Hosp. Inf. Mexico*, 1960, XVII, n° 3, 319-331.
256. KURNICK N.B., CARRERA A.E. — *Proc. Soc. Exp. Biol.*, 1953, 84, 618-621.
257. KUSCH T. — *Acta Biol. Med. Germ.*, 1964, 13, 351-357.
258. KUSHIMA T. — *Med. Jap. Osaka Univ.*, 1958, 9, 549.
259. KUWABARA Y. — *Kyosai. Iho.*, 1960, 9, n° 4, 54-88.
260. LACHNIT U., PIETSCHEMANN H. — *Arch. Gewerbepath.*, 1960, 18, 337-342.
261. LAKE G.C. — *Public Health Repts (U.S.)*, 1922, 37, 1123-1126.

262. LAMSON P.D., GARDNER G.H., GUSTAFSON R.K., MAIRE E.D., MC LEAN A.J. — *J. Pharmacol. Exptl. Therap.*, 1924, 22, 215-288.
263. LANGE K., KUHNE S. — *Hoppe Seyler Z. Physiol. Chem.*, 1961, 323, 43-47.
264. LARRARD J. de. — *Arch. Mal. Prof. Fr.*, 1963, 24, n^{os} 7-8, 653.
265. LARSON R.E., PLAA G.L., CREWS L.M. — *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 1964, 6, 154-162.
266. LAUDAHN G., LUDERS C.J. — *Virchows Arch. Path. Anat.*, 1957, 329, 581-609.
267. LECHAT P. — *Thérapie*, 1965, XX, 260-264.
268. LEDUC E.H., WILSON W. — *Arch. Path.*, 1958, 65, 147-157.
269. LEE C.S., STOWELL R.E., VILLASANA N. — *Cancer. Res.*, 1949, 9, 600.
270. LEEVY C.M. — *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1959, 102, 672.
271. LEEVY C.M., GEORGE W., DEYSINE M., GNASSI A.M. — *Exptl. Mol. Pathol.*, 1962, 1, 457-469.
272. LEWIS C.E. — *J. Occupational Med.*, 1961, 3, 82-86.
273. LEWY G.A., MARSH C.A. — *Adv. Carbohydr. Chem.*, 1959, 14, 381-428.
274. LINDBERG P., ORSTADIUS K., TANHUANPAA E. — *Acta Vet. Scand.*, 1962, 3, 235-244.
275. LINET VON O., HAVA M., MIKULASKOVA J. — *Arzneimittel-Forschung*, 1963, 13, n^o 2, 136-139.
276. LOYKE H.F. — *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1964, 115, n^o 4, 1035-1040.
277. LUNDH H.A.B. — *J. Occup. Med. U.S.A.*, 1964, 6, 123-128.
278. MASON E.E., LEE R.A., SMITH J., DIERKS Ch. — *Surgery*, 1959, 45, 765-776.
279. MC CLOSKEY J.F., MC GEHEE E.H. — *Arch. Path.*, 1950, 49, 200.
280. MC COLLISTER D.D., BEAMER W.H., ATCHISON G.J., SPENCER H.C. — *J. Pharmacol. Exptl. Therap.*, 1951, 102, 112.
281. MC LEAN P., ROSSI F. — *Biochem. J.*, 1964, 91, 261-270.
282. MAGEE N. — *Biochem. J.*, 1964, 91, 19-20 p.
283. MALINOWSKA A., TOMICKI Z. — *Wiad. Parazyt. (Pol.)*, 1961, 7, 121-128.
284. MANSUROVA I.D. — *Trudy Stalinabad. Med. Inst.*, 1957, 27, 21-27.
285. MARDASHEV S.R., BUROBIN V.A. — *Vopr. Med. Khim.*, 1962, 8, 320-322.
286. MARDASHEV S.R., BUROBIN V.A. — *Vopr. Med. Khim.*, 1963, 9, n^o 1, 93-94.
287. MARTIN N.B. — *J. Clin. Path.*, 1958, II, 516-519.
288. MARTINI N.B., DIANZANI M.V. — *Experientia*, 1958, 14, 285-286.
289. MASCITELLI-CORIANDOLI E. — *Arch. Maragliano, Pat. Clin.*, 1958, 14, n^o 1, 45-48.
290. MASCITELLI-CORIANDOLI E., LANZANI P. — *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.*, 1963, 39, n^o 20, 1191-1193.
291. MASON S.H., WROBLEWSKI F. — *A.M.A. Arch. Int. Med.*, 1957, 99, 245-252.
292. MASON E.E., LEE R.A., SMITH J., DIERKS C. — *Surgery*, 1959, 45, 765-766.
293. MAXIMCHUCK A.J., RUBINSTEIN D. — *Ann. Occupational. Hyg.*, 1961, 4, (1), 49-61.
294. MAXIMCHUCK A.J., RUBINSTEIN D. — *Canad. J. Biochem. Physiol.*, 1963, 41, n^o 2, 525-528.
295. MAYER G. — *Rev. International. Hépatol.*, 1952, 2, n^o 6, 817-878.
296. MEJBAUM W., in CHARCAFF E., DAVIDSON J.N. — *The Nucleic Acids*, Academic Press, N.Y., 1955, vol. 1, 301.
297. MENZINGER G., PINCHERA A., DELLABARBA D., TRESALTI E. — *Arch. Studio. Fisiopatol. Clin. Ricambio*, 1961, 25, 464-469.
298. MEYER J.H., PESSOA S.B. — *Am. J. Trop. Med.*, 1923, 3, 177-196.
299. MEYER R.H., WILLIAMES W.L. — *Anat. Record.*, 1954, 119, 289-303.
300. MILLER L.A. — *Exp. Cell. Res.*, 1964, 34, 283-292.
301. MILLS G.T., SMITH E.B. — *Biochem. J.*, 1953, 53, 245-253.
302. MOLANDER D.W., FRIEDMAN M.M. — *Clin. Res. Proc.*, 1956, 4, (1), 39.

303. MOLANDER D.W., WROBLEWSKI K., LA DUE J.S. — *J. Lab. Clin. Med.*, 1955, 46, 831-839.
304. MOORE K.E., BRODY T.M. — *Fed. Proc.*, 1959, 18, 375.
305. MOORE K.E., BRODY T.M. — *Am. J. Physiol.*, 1960, 198, 677-681.
306. MORETTI G.F., MAHON R., STAEFFEN J., BALLAN P., CATANZANO G., VANDEN-DRIESSCHE M. — *Rev. Franc. Et. Clin. et Biol.*, 1963, 8, (8), 796-800.
307. MORETTI G.F., STAEFFEN J., BALLAN P., CATANZANO G. — *Press. Med.*, 1964, 72, (6), 325-328.
308. MORETTI G.F., STAEFFEN J., BALLAN P., DEMANGE G., ROUSSEAU P. — *Press. Med.*, 1960, 58, 2278-2281.
309. MORETTI G.F., STAEFFEN J., BALLAN P., DEMANGE G., ROUSSEAU J. — *Rev. Franç. Et. Clin. et Biol.*, 1961, VI, 147-154.
310. MORETTI G.F., STAEFFEN J., BALLAN P., DEMANGE G. — *Rev. International Hépatol.*, 1961, II, 545-557.
311. MORRISON G.R., BROCK F.E., KARL I.E., SHANK R.E. — *Arch. Biochem. and Biophys.*, 1965, III, 448-460.
312. MOURAY H., MORETTI J., JAYLE M.F., FABRE R. — *C. R. Acad. Sci. Paris*, 1964, 258, 5095-5098.
313. MOYSON F., GAVOSTO F. — *Biochim. Biophys. Acta*, 1953, 10, 479.
314. MYREN J. — *Acta Pathol. et Microbiol. Scand.*, 1956, Suppl. 116, 1-31.
315. N... — *Gastroenterology*, 1960, 38, 786-804.
316. NEUBERG D., MAIBAUER D. — *Arch. Exptl. Pharmacol.*, 1959, 235, 291-300.
317. NEUMAN V. — *Veter. Med. Ceskosl*, 1964, 9, n° 3, 205-212.
318. NEUMAN V., KULHANER V., MADEROVA U., SINDELAROVA K. — *Acta Veter. Acad. Sci. Hungar*, 1963, 13, 239-244.
319. NEWHAUS O.W., BALEGNO H.F., BIBEAU M. — *Nature, Lond.*, 1962, 196, 1001-1002.
320. NEWHAUS G., BENHOLD I., KESSEL M., WELER H. — *Klin. Wschr.*, 1963, 41, 619-620.
321. NICOLA P. de, PETRONIO L., SARTORI S. — *Il Fegato*, 1958, 4, (3), 280-293.
322. NICORA E., BERTIERI A., ANTOLA R.M. — *Pathologica*, 1962, 54, 447-454.
323. NOMIYA T. — *Igaku Zasshi*, 1960, 18, (1), 1-9.
324. NUMATA K. — *Nara Igaku Zasshi*, 1960, 11, 970-977.
325. OBERLING Ch., ROUILLER Ch. — *Ann. Path.*, 1956, 1, 401-427.
326. OGATA M. — *Acta Med. Okayama*, 1961, 15, 367-374.
327. OGATA M., KURODA Y. — *Okayama Igakkai Zasshi*, 1962, 74, 275-280.
328. OGAWA M. — *Acta Schol. Med. Univ. Kioto*, 1958, 35, 229-241.
329. OHBA Y. — *Yamaguchi Igaku*, 1960, 9, 622-626.
330. OHE K. — *Acta Sch. Med. Univ. Kioto*, 1962, 38, 117-144.
331. OPPENHEIMER E.H. — *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, 1958, 102, 313-319.
332. PAOLETTI R. — *Biochem. Soc. Symp.*, 1963, 24, 171-180.
333. PASOTTI C. — *Gazz. Int. Med. Chir.*, 1964, 69, 1989-1993.
334. PAUL B.P., RUBINSTEIN D. — *J. Pharmacol. and Exper. Therap.*, 1961, 141, 141-148.
335. PELLEGRINI A.S. — *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.*, 1963, 39, n° 23, 1435-1440.
336. PELOCCHINO A.M. — *Arch. Sci. Med.*, 1956, 102, 488-499.
337. PLAA G.L., HINE C.H. — *Arch. Industr. Health*, 1960, 21, 114-123.
338. POGELL B.M. — *Arch. Biochem. Biophys.*, 1956, 61, 324-334.
339. POGGI M., PAOLETTI R. — *Biochem. Pharmacol. G.B.*, 1964, 13, n° 7, 949-954.
340. POLLAK J.K. — *Exp. Cell. Res.*, 1960, 19, 156-163.
341. POPPER H., KOCH-WESER D., DE LA HUERGA J. — *J. Mt Sinai Hosp.*, 1952, 19, 256-265.

342. POPPER H., SCHAFFNER F. — *Liver : Structure and Function*, 1957, Mc Graw Hill Book Cie Inc. Ed. N.Y., 777.
343. POPPER H., SCHAFFNER F. — *Ann. Internat. Med.*, 1959, 51, 1230-1252.
344. POST J.H., HIMES M.P., KLEIN A., HOFFMAN J. — *A.M.A. Arch. Path.*, 1957, 64, 278-283 et 284-289.
345. POST J., KLEIN A., HOFFMAN J. — *A.M.A. Arch. Pathol.*, 1960, 70, 314-321.
346. POTTER V.R., SIEKEVITZ P., SIMONSON H.C. — *J. Biol. Chem.*, 1953, 205, 893.
347. PRIEST R.E., SMUCHLER E.A., ISERI O.A., BENDITT E.P. — *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1962, 3, 50-51.
348. PROKOPOWICZ J. — *Experientia*, 1963, 19, 469-470.
349. PROKOPOWICZ J., JAROSZEWICZ L., HRYNIEWIECKI A., POPLAWSKI A. — *Acta Physiol. Polon.*, 1964, 15, 55-65.
350. QUINAN C. — *J. Med. Research*, 1915, XXXII, 73-93.
351. RAHMAN M., AHMAD K. — *Ann. Biochem. Exptl. Med.*, 1955, XV, n° 3, 143-148.
352. RECKNAGEL R.O., ANTHONY D.D. — *Fed. Proc.*, 1957, 16, 105.
353. RECKNAGEL R.O., ANTHONY D.D. — *J. Biol. Chem.*, 1959, 234, (2), 1052-1059.
354. RECKNAGEL R.O., LITTERIA M. — *Amer. J. Path.*, 1960, 36, 521-531.
355. RECKNAGEL R.O., LOMBARDI B. — *J. Biol. Chem.*, 1961, 236, 564.
356. REES K.R. — *Symposium on Enzymes and Drug Action*, Ciba Foundation, Ed. Churchill, 1962, 344-358.
357. REES K.R. — *J. Path. Bact.*, 1963, 86, 327-331.
358. REES K.R., SHOTLANDER V.L. — *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1963, 104, n° 3, 905-915.
359. REES K.R., SHOTLANDER V.L. — *Proc. Roy. Soc. Ser. B*, 1963, 157, 517-535.
360. REES K.R., SINHA K.P. — *J. Path. Bact.*, 1960, 80, 297-307.
361. REES K.R., SINHA K.P., SPECTOR W.G. — *J. Path. Bact.*, 1961, 81, 107-118.
362. REES K.R., SMITH J.F. — *J. Path. Bact.*, 1963, 86, 327-331.
363. REICHARD H. — *J. Lab. Clin. Med.*, 1959, 53, 417-425.
364. REICHARD H. — *J. Lab. Clin. Med.*, 1960, 56, 218.
365. REICHARD H. — *Acta Med. Scand.*, 1961, 169, n° 6, 637-648.
366. REICHARD H. — *Acta Med. Scand.*, 1962, 172, Suppl. 390, 3-18.
367. REICHARD H., REICHARD P. — *J. Lab. Clin. Med.*, 1958, 52, 709-717.
368. REICHARD P. — *Acta Chem. Scand.*, 1957, 11, 523-536.
369. REISSMANN K.R., BOLEY J., CHRISTIANSON J.F., DELP M.H. — *J. Lab. Clin. Med.*, 1954, 43, 572-582.
370. REITMAN S., FRANKEL S. — *Amer. J. Clin. Path.*, 1957, 28, 56.
371. REYNOLDS E.S. — *J. Cell. Biol. U.S.A.*, 1963, 19, 139-157.
372. REYNOLDS E.S., THIERS R.E. — *J. Clin. Invest.*, 1959, 38, 1034.
373. REYNOLDS E.S., THIERS R.E., VALLÉE B.L. — *J. Biol. Chem.*, 1962, 237, 3546-3551.
374. RIBEIRO LP., MC DONALD H.J. — *Clin. Chim. Acta*, 1963, 8, 727-730.
375. RICHTER G. — *Biochim. Biophys. Acta*, 1962, 61, n° 1, 144-146.
376. RICHTER M.L. — *J. Pharmacol. Exp. Therap.*, 1951, 101-103, 94-97.
377. RITIS F. de, COLTORTI M., GIUSTI G. — *Science*, 1956, 124, 32.
378. RITIS F. de, COLTORTI M., GIUSTI G. — *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.*, 1956, 32, 386.
379. RITIS F. de, COLTORTI M., GIUSTI G. — *Rec. Progr. in Med.*, 1956, XX, 533-551.
380. RITIS F. de, COLTORTI M., GIUSTI G. — *J. Infect. Dis.*, 1957, 101, 219-223.
381. RITIS F. de, COLTORTI M., GIUSTI G. — *Clin. Chim. Acta*, 1957, 2, 70-74.
382. RITIS F. de, COLTORTI M., GIUSTI G. — *Europ. Symp. Med. Enzymol.*, Milano, 1960.
383. RITIS F. de, COLTORTI M., GIUSTI G. — *Minerva Med.*, 1957, 48, 1598-1603.
384. RITIS F. de, GIUSTI G., PIAZZA M. — *Arzeimittel-Forsch.*, 1963, 13, 283-284.

385. RITIS F. de. — *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.*, 1963, 39, n° 24, 1635-1636.
386. ROBINSON D.S., STEAKINS A. — *Biochem. J.*, 1962, 82, n° 1, 9 p.
387. ROGNONE L., SPOSITO M., ROSSO-CALA S., URBANI E. — *Arch. Ital. Malattie apparate Digerente*, 1955, 21, 87-123.
388. ROMAN W., DULMANIS A. — *The Lancet*, 1959, 2, 90.
389. ROSSI F., MC LEAN P. — *Nature, Lond.*, 1963, 197, 1207-1208.
390. ROSSI F., ZATTI M. — *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.*, 1959, 35, 1831-1834.
391. ROSSI F., ZATTI M. — *Experientia*, 1963, 19, n° 4, 197-198.
392. ROSSI F., ZATTI M. — *Britt. J. Exptl. Pathol.*, 1963, 44, 131-136.
393. ROUILLER Ch. — *The liver*, Academic Press., N. Y. and Lond., 1963, vol. 1-2.
394. ROY A.B. — *Biochem. J.*, 1953, 53, 12-15.
395. ROY A.B. — *Biochem. J.*, 1957, 66, 700.
396. ROY A.B. — *Biochem. J.*, 1958, 68, 519-528.
397. RUBINSTEIN B., RUBINSTEIN D. — *Canad. J. Biochem.*, 1964, 42, n° 19, 1263-1273.
398. RUBINSTEIN D. — *Amer. J. Physiol.*, 1962, 6, 1033-1037.
399. RUBINSTEIN D., KANICS L. — *Canad. J. Biochem.*, 1964, 42, 1577-1585.
400. RUBETSKOI L.S., KOROTKINA R.N. — *Biull. Eksp. Biol. Med.*, 1960, 50, 122-124.
401. RUDOLPH L.A., DUTTON R.E., SCHAEFER J.A. — *J. Clin. Invest.*, 1955, 34, 1960.
402. RUGGIERI S., CIONI P. — *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.*, 1962, 38, 1128-1131.
403. SAKA O., SIPAHIOGLU U., MIZAN N. — *Bull. Fac. Med. Istambul.*, 1955, 18, 192-209.
404. SARIC M., PRPIC-MAJIC D., BERITTI T. — *Archiv. Hig. Rada*, 1962, 13, n° 1, 19-27.
405. SARTORI S., MOLINA V. — *Biol. Lat. Milano*, 1959, 12, 545-551.
406. SARTORI S., NESPOLI M. — *Arch. Med. Internat., Parma*, 1960, 12, 1-9.
407. SARTORI S., VALAGUSSA L., MAINIERI R.L. — *Gaz. Int. Med. Chir.*, 1964, 69, 1050-1054.
408. SCALABRINO L., CARACRISTI R., PERITI P. — *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.*, 1961, 37, (1), 450-452.
409. SCHAPIRA F., DREYFUS J.C., SCHAPIRA G. — *C. R. Acad. Scienc.*, 1957, 245, 808-810.
410. SCHATZKI P.F. — *Arch. Path.*, 1963, 75, (1), 85-90.
411. SCHMIDT E., SCHMIDT F.W., WILDHIRT E. — *Klin. Wschr.*, 1958, 36, 172.
412. SCHNEIDER W.C. — *J. Biol. Chem.*, 1945, 161, 293.
413. SCHNEIDER W.C. — *J. Biol. Chem.*, 1946, 165, 585-593.
414. SCHOLLER J., BODANSKY O., FORTNER J.G., PHILIPS F.S., STRENBURG S.S. — *Proc. Amer. Assoc. Cancer Res.*, 1956, 2, n° 2, 145.
415. SCHOTZ M.C., RECKNAGEL R.O. — *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1960, 103, 398-400.
416. SCHOTZ M.C., RECKNAGEL R.O. — *Biochim. Biophys. Acta*, 1960, 41, 151-152.
417. SCHULZE G. — *Z. Ges. Exp. Med.*, 1960, 133, 194-202.
418. SCHWARZMANN V. — *Rev. Intern. Hepatol.*, 1957, VII, 387-429.
419. SCHWED P. — *Inaug. Diss. Dokt. Med. Basel*, 1961, Basel Buchdruck Nationalzeitung, 1962, in-8°.
420. SCHWEITZER I.L. — *Illinois Med. J.*, 1959, 116, 147-149.
421. SEAKINS A., ROBINSON D.S. — *Biochem. J.*, 1963, 86, 401-407.
422. SENEVIRATNE R.D. — *Quart. J. Exptl. Physiol.*, 1949, 35, 77-110.
423. SHARE L., RECKNAGEL R.O. — *Amer. J. Physiol.*, 1959, 197, 121-125.
424. SIBLEY J.A., FLEISHER G.A. — *Proc. Staff. Meet. Mayo Clin.*, 1954, 29, 591-603.
425. SIBLEY J.A., HIGGINS G.M., FLEISCHER G.A. — *A.M.A. Arch. Path.*, 1955, 59, 712-716.

426. SIMLER M., MANRER M., MANDER J.C. — *Strasbourg Med.*, 1964, 909-918.
427. SLATER T.F. — *Biochem. Pharmacol.*, 1965, 14, (2), 178-181.
428. SLESINGER L. — *Sb. Cesk. Akad. Zemedel. Ved. Vet. Med.*, 1961, 6, n° 10, 799-806.
429. SMITH M.H. — *Europ. Symp. Med. Enzymol. Milano*, 1960.
430. SMITH J.F., COOTE E. — *J. Path. Bact.*, 1963, 86, n° 1, 103-108.
431. SMUCKLER E.A., BENDITT E.P. — *Science*, Washington, 1963, 140, 3081.
432. SMUCKLER E.A., ISERI O.A., BENDITT E.P. — *Biochem. Biophys. Res. Commun.* N. Y., 1961, 5, 270-275.
433. SMUCKLER E.A., ISERI O.A., BENDITT E.P. — *J. Exptl. Med.*, 1962, 116, 55-72.
434. SMUCKLER E.A., ISERI O.A., BENDITT E.P. — *Lab. Invest. U.S.A.*, 1964, 13, n° 6, 531-538.
435. SOTTON P.M. — *J. Path. Bact.*, 1960, 79, 157-158.
436. SOVA Z., JICHA J. — *Zeutr. Veterinaer. Med.*, 1963, 10, 314-321.
- 436 bis. — SPRINZ H., WALDSCHMIDT-LEITZ E. — *Hoppe-Seylers Z. Physiol. Chem.*, 1953, 293, 16-32.
437. STEIN Y., STEIN O., ARONOVITCH J., GROSSOWICZ M. — *Bull. Res. Counc. Israël*, 1951, 145, 991.
438. STEIN Y., STEIN O., ARONOVITCH J., GROSSOWICZ N., RACHMILEWICZ M. — *J. Lab. Clin. Med.*, 1959, 54, 545-550.
439. STERKEL R.L., SPENCER J.A., WOLFSON S.J., WILLIAMS-ASHMAN H.G. — *J. Lab. Clin. Med.*, 1958, 52, 176-192.
440. STERN P.H., BRODY T.M. — *J. Pharmacol. Exper. Therap. U.S.A.*, 1963, 141, n° 1, 65-73.
441. STONER H.B. — *British J. Exptl. Path.*, 1956, 37, 176-198.
442. STONER H.B., MAGEE P.N. — *Brit. Med. Bull.*, 1957, 13, n° 2, 102-106.
443. STOWELL R.E., LEE C.S. — *Arch. Path.*, 1950, 50, 519-537.
444. STOWELL R.E., LEE C.S., TSUBOI K.K., VILLASANA A. — *Cancer Res.*, 1951, 11, 345-354.
445. SUH J.C. — *Korean Med. J.*, 1963, 8, n° 2, 43.
446. SUVA J., MATEJKA M., KRIŠKA M., ROLLOVA E., MAYER O. — *Cesk. Gastroent. Vyz.*, 1963, 17, 337-342.
447. TAKESHITA M., IWAI H. — *Arch. Biochem. Biophys.*, 1964, 108, 357-358.
448. TAKETA K. — *Acta Med. Okayama*, 1962, 16, n° 2, 99-101.
449. TALEISNIK S. — *Amer. J. Physiol.*, 1954, 178, 100-102.
450. TANAKA M. — *Yamaguchi Igaku*, 1961, 10, (2), 385-398.
451. TANI H. — *Nagoya J. Med. Sci.*, 1964, 26, (4), 228-233.
452. THIELMANN K., KRAUL M., BLUME E., FRUNDER H. — *Hoppe Seyler Z. Physiol. Chem.*, 1960, 322, 231-240.
453. THIERS R.E., REYNOLDS E. — *Fed. Proc.*, 1958, 17, 537.
454. THOMSON J.F., MOSS E.M. — *Cancer*, 1955, 8, 789-795.
455. TOPPICH-STRAUB VON D., MINDEN H. — *Arch. Gewerbepath.*, 1961, 18, 442-457.
456. TRIFONOV S. — *B'alg. Akad. Nauk. Izvest. Inst. Sravni. Patol. Zhivotn.*, 1964, 10, 235-243.
457. TROPEANO L., BELFIORE F. — *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.*, 1959, 35, 1081-1084.
458. TRUHAUT R., AMAR A., BOHUON C. — *Ann. Biol. Clin.*, 1964, 10-12, 1055-1065.
459. TRUHAUT R., ASSICOT M., BOHUON C. — *Journées de Toxicol. Biochim.*, 26-27 mai 1964.
460. TRUHAUT R., DELARUE J.C. — *Ann. Biol. Clin. (Paris)*, 1965, 23 (1-2), 65-72.
461. TRUMP B.F., ERICSSON J.L.E. — *Exp. Cell. Res.*, 1964, 33, 598-601.
462. TSUBOI K.K. — *Biochim. Biophys. Acta*, 1952, 8, (n° 2), 173-186.
463. TSUBOI K.K., STOWELL R.E. — *Cancer Res.*, 1951, 11, 221-228.

464. TSUBOI K.K., YOKOYAMA O.H., STOWELL R.E., WILSON M.E. — *Arch. Biochem. Biophys.*, 1954, 48, n° 2.
465. UCHIO T. — *Taishitsu Igaku Kenkyushe Hokoku*, 1958, 9, 192-195.
466. UEZUMI N., HASEGAWA S., KASAMA K. — *Mie Med. J.*, 1962, 11, 381-386.
467. UGARTE G., PINO M.E. — *J. Lab. Clin. Med.*, 1960, 55, 522-529.
468. UGARTE G., PINO M.E. — *Rev. Med. Chile*, 1959, 87, 39.
469. UGAZIO G. — *G. Biochim. Ital.*, 1960, 9, n° 2, 107-114.
470. UGAZIO G., ARTIZZU M., PANI P., DIANZANI M.U. — *Biochem. J.*, 1964, 90, (1), 109-116.
471. VAISLER L., COSTINER E., BIENER J. — *Rev. Sci. Med., Acad., Rép. Populaire Roumaine*, 1963, 8, (3-4), 189-192.
472. VALAME V.P., CHITRE R.G., SHETH U.K. — *J. Postgraduate Med.*, 1962, 8, 71-75.
473. VANNUCHI C., MUSIANI S., CORSINI F. — *Clin. Pediatr. Ital.*, 1961, 43, n° 3, 179-185.
474. VARGA F. — *Acta Physiol. Acad. Sci. Hungar.*, 1962, 22, n° 2, 131-134.
475. VEREERSTRAETEN P., VERNIORY A., VEREERSTRAETEN J., TOUSSAINT C., VERBAWCK M., LAMBERT P.P. — *Acta Clin. Belg.*, 1963, 18, n° 2, 116-127.
476. VERNE J., CECCALDI P.F., BIEZ-CHARRETON J. — *Sem. Hôp. Paris, Path. et Biol.*, 1956, 32, (8), 577-580.
477. VERNE J., CECCALDI P.F., HEBERT S., ROUX J.M. — *Sem. Hôp. Path. Biol.*, 1959, 7, 2311-2315.
478. VIDO I., NIEDERLAND Tr. — *Acta Hepatosplen. (Stuttgart)*, 1963, 10, 182-188.
479. VIDO I., NIEDERLAND Tr. — *Z. Ges. Inn. Med.*, 1963, 18, 228-230.
480. VIDO I., NIEDERLAND Tr. — *Revue Agressologie*, 1965, VI, 5, 585-591.
481. VIDO I., TOMEK K. — *Cesk. Gastroent. Vyz.*, 1961, 15, 400-413.
482. VIDO I., TOMIK F. — *Acta Hepatosplenol.*, 1963, 10, 176-181.
483. VIDO I., TOMIK F. — *Revue Agressologie*, 1965, VI, 5, 593-598.
484. VILLELA G.G. — *Nature, Lond.*, 1961, 190, 807-808.
485. VILLELA G.G. — *Rev. Brasil. Biol.*, 1963, 23, 251-253.
486. VILLELA G.G. — *Biochem. Pharmacol. G.B.*, 1964, 13, 665-676.
487. VILLELA G.G., MITIDIERI E. — *Rev. Bras. Biol.*, 1955, 15, 285-292.
488. VILLELA G.G., MITIDIERI E. — *Nature, Lond.*, 1955, 175, 208-209 et 1087.
489. VINCENT D., SEGONZAC G., SESQUE G. — *Rev. Fr. Et. Clin. Biol.*, 1961, 6, 1083-1086.
490. WACHSTEIN M. — Dans ROULLER : *The Liver*, 1963, Academic Press N.Y. and Lond.
491. WADA M., SHIGETA Y., IZUMI K., SHIRAISHI S. — *Vitamins, Jap.*, 1964, 29, 35-39.
492. WAHI P.N., TANDON H.D., BHARADWAI J. — *Acta Pathol. Microbiol. Scand.*, 1955, 37, 305-321.
493. WANG-CHUNG-YEN. — *Biokhimiia*, 1962, 27, 208-213.
494. WARAVDEKAR U.S., GRIFFIN C.C. — *Exp. Cell. Res.*, 1964, 33, 450-458.
495. WARTBURG J.P. VON, ROTHLISBERGER M. — *Helv. Physiol. Pharmacol. Acta*, 1963, 19, n° 1, 30-41.
496. WEIR D.M. — *Nature, Lond.*, 1964, 202, 307-308.
497. WELDON P.R., RUBENSTEIN B., RUBINSTEIN D. — *Canad. J. Biochem.*, 1965, 43, 647-658.
498. WHITE L.P. — *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1958, 75, 349-356.
499. WILGRAM G.F. — *Fed. Proc. Abst.*, 1961, 20, 290.
- 499 bis. WIRTSCHAFTER Z.T., TSUJIMURA J.K. — *Arch. Environmental Health*, 1961, 2, 16-22.
500. WOLFF R., ROYER P., KARLIN Mme R. — *Bull. Soc. Chimie Biol.*, 1952, 34, 538-547.

501. WOLFSON S.K., SPENCER J.A., STERKEL R.L., ASHMAN H.G. — *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1958, 75, 260-269.
502. WOOD R.L. — *Z. Zellforsch. u. Mikroskop. Anat.*, 1963, 58, 679-692.
503. WROBLEWSKI F. — *Advances in Clin. Chem.*, 1958, 1, 329.
504. WROBLEWSKI F., JERVIS G., LA DUE J.S. — *Ann. Internal. Med.*, 1956, 45, 782-800.
505. WROBLEWSKI F., LA DUE J.S. — *J. Lab. Clin. Med.*, 1954, 44, 958-959.
506. WROBLEWSKI F., LA DUE J.S. — *Proc. Soc. Exp. Biol.*, 1955, 90, 210-213.
507. WROBLEWSKI F., LA DUE J.S. — *Ann. Internal Med.*, 1956, 45, 801-811.
508. YAMAMATO R.S., OKUDA K., CHOW B.F. — *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1957, 94, 497-500.
509. YAMAMURA Y., MATSUKUBO M., SATO T., SAKAMORI S., KANADA T., UENISHI M. — *Tokyo Jikeikai Ika Daigaku Zasshi*, 1960, 75, 454-459.
510. YOUNG I.I. — *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1958, 75, 357-362.
511. ZAMFIRESCU-GHEORGHIU M., POPESCU I.G., VELICAN D., MIRON C. — *Stud. Cercet. Med. Intern.*, 1961, 2, 111-117.
512. ZECCA I., MAGNANELLI P., ANDREUCCI G. — *Il Fegato*, 1958, 4, 274-279.
513. ZILE A., LARDY H.A. — *Arch. Biochem. Biophys.*, 1959, 82, 411-421.
514. ZIMMERMAN H.J. — *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1963, 104, (3), 196.
515. ZIMMERMAN H. — *Verhandl. Deut. Ges. Pathol.*, 1963, 47, 301-306.
516. ZOLLNER N., GROEBL H. — *Hoppe-Seylers Z. Physiol. Chem.*, 1952, 290, 177-180.
517. ZOLLNER N., RAISICH E. — *Z. Ges. Exp. Med.*, 1956, 128, 140-147.
518. ZOLLNER N., RAISICH E. — *Chem. Zent.*, 1958, 129, 1073.
519. ZUGRAUESCU C., FLORICA M., SMARANDA C. — *Acad. Rep. Populare Romine, Inst. Med. Interna, Studii Cercetari Med. Interna*, 1960, 1, 65-79.

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION	7
RECHERCHES BIBLIOGRAPHIQUES	
CHAPITRE I. — Généralités	11
CHAPITRE II. — Variations biochimiques observées au cours d'hépatites expérimentales au tétrachlorure de carbone	14
I. <i>VARIATIONS DES ACTIVITES ENZYMATIQUES</i> ..	14
A. — Hydrolases	14
B. — Transférases	20
C. — Oxydo-réductases	24
D. — Lyases et synthéases	29
E. — Isomérases et racémases	31
II. <i>AUTRES MODIFICATIONS BIOCHIMIQUES</i>	31
CHAPITRE III. — Mécanisme d'action du CCl_4	34
RECHERCHES EXPERIMENTALES	
INTOXICATION AU TETRACHLORURE DE CARBONE	
CHAPITRE I. — Généralités	47
CHAPITRE II. — Dosage de l'azote total	49
CHAPITRE III. — Dosage des acides désoxyribonucléique et ribonucléique.	51
CHAPITRE IV. — Activités cholinestérasiques	54
CHAPITRE V. — Activités phosphatasiques acide et alcaline	56
CHAPITRE VI. — Activité 5-nucléotidasique	59
CHAPITRE VII. — Activité glutaminasique II	61
CHAPITRE VIII. — Activités transaminasiques G.O.T. et G.P.T.	63
CHAPITRE IX. — Activité ornithine-carbamyl-transférasique	66
CHAPITRE X. — Activité lacticodéshydrogénasique	68
INTOXICATION AU NITRATE D'URANYLE	
CHAPITRE I. — Généralités	72
CHAPITRE II. — Dosage des protéines	73
CHAPITRE III. — Activités cholinestérasiques	75
CHAPITRE IV. — Activités phosphatasiques acide et alcaline	76
CHAPITRE V. — Activités transaminasiques G.O.T. et G.P.T.	78
CHAPITRE VI. — Activité lacticodéshydrogénasique	81
VUE D'ENSEMBLE ET ESSAI D'INTERPRÉTATION	82
RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS GÉNÉRALES	86
BIBLIOGRAPHIE	90

